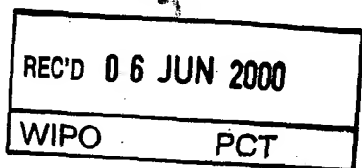


18. Mai 2000



**Bescheinigung**

EP 00/2410

Die BIOSYN ARZNEIMITTEL GMBH in Fellbach/Deutschland hat eine Patentanmeldung unter der Bezeichnung

"Nukleinsäuremolekül, umfassend eine für ein Hämocyanin kodierende Nukleinsäuresequenz"

am 17. März 1999 beim Deutschen Patent- und Markenamt eingereicht.

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ursprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

Die Anmeldung hat im Deutschen Patent- und Markenamt vorläufig das Symbol C 07 H 21/04 der Internationalen Patentklassifikation erhalten.

München, den 11. Mai 2000

**Deutsches Patent- und Markenamt**

**Der Präsident**


Im Auftrag

Weihmayr

Aktenzeichen: 199 11 971.6

**PRIORITY  
DOCUMENT**

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)



## Nukleinsäuremolekül, umfassend eine für ein Hämocyanin kodierende Nukleinsäuresequenz

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Nukleinsäuremolekül, umfassend eine für ein Hämocyanin, eine Hämocyanin-Domäne oder ein Fragment mit den immunologischen Eigenschaften wenigstens einer Domäne von Hämocyanin kodierende Nukleinsäuresequenz, diese umfassende Konstrukte, die Nukleinsäuresequenzen oder die Konstrukte umfassende Wirtszellen, Verfahren zum Herstellen von Hämocyanin-Polypeptiden und rekombinante Hämocyanin-Polypeptide.

Hämocyanin ist ein blaues Kupferprotein, das frei gelöst im Blut zahlreicher Mollusken und Arthropoden auftritt und den Sauerstoff transportiert. Von den Mollusken enthalten die Cephalopoden, Chitonen, die meisten Gastropoden sowie einige Bivalvia Hämocyanin. Hämocyanin ist bei den Arthropoden typisch für Arachniden, Xiphosuren, malakostrake Crustaceen und *Scutigera*. Zahlreiche Insektenarten weisen Proteine auf, die sich von Hämocyanin ableiten. Hämocyanine liegen extrazellulär vor und flottieren in der Hämolymphe.

Während das Arthropoden-Hämocyanin bei elektronenmikroskopischer Untersuchung einen Durchmesser von maximal 25 nm hat und eine Untereinheit ein Molekulargewicht von 75.000 Da aufweist, sind Molluskencyanine viel größer. So hat z.B. das Hämocyanin von *Megathura* einen Durchmesser von 35 nm und ist aus 2 Untereinheiten zusammengesetzt. Jede Untereinheit hat ein Molekulargewicht von ca. 400.000 Da und ist in acht sauerstoffbindende Domänen aufgeteilt, die jeweils ein Molekulargewicht von ca. 50.000 Da haben. Die Domänen unterscheiden sich immunologisch. Diese Domänen können durch limitierte Proteolyse aus der Untereinheit freigesetzt werden.

Das im Elektronenmikroskop sichtbare Hämocyanin der Gastropoden hat ein Molekulargewicht von ca. 8 Mio. Da und ist ein Di-Dekamer. Im Gegensatz hierzu ist das Hämocyanin der Cephalopoden als isoliertes Dekamer angeordnet, das sich auch in der Quartärstruktur deutlich vom Hämocyanin der Gastropoden unterscheidet.

Von besonderem immunologischen Interesse ist das Hämocyanin der kalifornischen Schlüssellochschnecke *Megathura crenulata*, einer „Keyhole Limpet“. Das Hämocyanin wird deshalb auch als Keyhole Limpet Hemocyanin (KLH) bezeichnet. Hämocyanine sind sehr starke Antigene. Die Immunisierung eines Vertebraten führt zu einer bisher wenig verstandenen, unspezifischen Aktivierung des Immunsystems. Durch die allgemeine Aktivierung des Immunsystems ist es dann möglich, auch eine Immunreaktion gegenüber anderen, bisher tolerierten Fremdstrukturen zu erreichen. KLH wird vor allem als Hapten-Träger verwendet, um so die Bildung von Antikörpern gegen das Hapten zu erreichen.

Neben *Megathura crenulata* gehört auch das Seeohr *Halotis tuberculata* zur im Hinblick auf die Evolution relativ alten Gruppe der Archaeogastropoda. Es ist bekannt, daß auch *Halotis* Hämocyanin produziert.

KLH ist ein Gemisch aus zwei unterschiedlichen Hämocyaninen, die als KLH1 und KLH2 bezeichnet werden. Die Untereinheit des KLH1 ist ein 390 kDa Polypeptid, das aus acht globulären Domänen besteht, die entsprechend ihrer Reihenfolge in der Untereinheit mit 1 a bis 1 h bezeichnet werden. KLH2 hingegen weist ein Molekulargewicht von 350 kDa auf und enthält nach neuesten Daten ebenfalls 8 Domänen, die als 2 a bis 2 h bezeichnet werden. *In vivo* bildet jede Art von Untereinheit Homo-Oligomere, wohingegen Hetero-Oligomere nicht beobachtet wurden.

Durch limitierte Proteolyse und gekreuzte Immunelektrophorese der Untereinheit von KLH1 und KLH2 wurden amino-, interne und carboxy-terminale Domänen erhalten, deren amino-terminale Sequenz bestimmt wurde (Söhngen et al., Eur. J. Biochem. 248 (1997), 602-614; Gebauer et al., Zoology 98(1994), 51-68). Die erhaltenen Sequenzen erlauben jedoch nicht den Entwurf sequenzspezifischer Primer und/oder Sonden, die für eine Hybridisierung mit genomischer DNA Erfolg versprechen. Obwohl beide KLH-Typen seit 1991 bzw. 1994 bekannt sind, konnte daher bisher keine Primärstruktur aufgeklärt werden.

Auf DNA-Ebene ist bisher in bezug auf Mollusken nur die cDNA-Sequenz der Hämocyanin-Untereinheit aus dem Cephalopoden *Octopus dofleini* bekannt (Miller et al., J. Mol. Biol. 278 (1998), 827-842). *Octopus dofleini* ist phylogenetisch von den Archæogastropoden sehr weit entfernt. Eine Hämocyanin-Gensequenz aus Mollusken ist bisher überhaupt nicht bekannt.

---

Wie von Miller et al. supra, beschrieben, ist es sowohl schwierig, eine einzige funktionelle Domäne (Funktionelle Einheit = Domäne; auch „funktionelle Domäne“ genannt) zu isolieren als auch Gewebe zu erhalten, das zur Aufreinigung von mRNA für die cDNA-Sequenzierung geeignet ist.

Bei der Analyse des Hämocyanins aus *Megathura crenulata* besteht eine weitere Schwierigkeit darin, daß die Versuchstiere ein Alter von 4 bis 8 Jahren erreicht haben müssen, um ihnen erstmals Hämolymphe entnehmen zu können. Nach Entnahme der Hämolymphe wird Hämocyanin bei diesen Tieren nicht nachproduziert. Bisher ist nicht bekannt, wie die Hämocyaninsynthese stimuliert werden könnte. Darüber hinaus ist die Zucht von *Megathura* äußerst aufwendig, da hierfür spezielle Strömungsbecken erforderlich sind.

Es ist daher eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung, Mittel und Wege bereitzustellen, um Hämocyanin und/oder Domänen davon in ausreichender Menge und kostengünstig produzieren zu können. Dies umfaßt die weitere Aufgabe, ein Verfahren anzugeben, mit dem dieses Hämocyanin hergestellt werden kann.

Diese Aufgabe wird erfindungsgemäß gelöst durch ein Nukleinsäure-Molekül, umfassend eine für ein Hämocyanin, eine Hämocyanin-Domäne oder ein funktionelles Fragment davon mit den immunologischen Eigenschaften wenigstens einer Domäne eines Hämocyanins kodierende Nukleinsäuresequenz, wobei die Nukleinsäuresequenz ausgewählt ist aus

- (a) der Gruppe der nachfolgend angegebenen DNA-Sequenzen bzw. der ihnen entsprechenden RNA-Sequenzen:



in SEQ ID NO:1 (HtH1 Domäne b),  
SEQ ID NO:2 (HtH1 Domäne c),  
SEQ ID NO:3 (HtH1 Domäne d),  
SEQ ID NO:4 (HtH1 Domäne e),  
SEQ ID NO:5 (HtH1 Domäne f),  
SEQ ID NO:6 (HtH1 Domäne g),  
~~SEQ ID NO:7 (HtH1 Domäne h),~~  
SEQ ID NO:8 (partielle HtH2 Domäne b),  
SEQ ID NO:9 (HtH2 Domäne c),  
SEQ ID NO:10 (HtH2 Domäne d),  
SEQ ID NO:11 (HtH2 Domäne e),  
SEQ ID NO:12 (HtH2 Domäne f),  
SEQ ID NO:13 (HtH2 Domäne g),  
SEQ ID NO:14 (HtH2 Domäne h),  
SEQ ID NO:15 (partielle KLH1 Domäne c),  
SEQ ID NO:16 (KLH1 Domäne d),  
SEQ ID NO:17 (partielle KLH1 Domäne e),  
SEQ ID NO:18 (KLH2 Domäne b),  
SEQ ID NO:19 (KLH2 Domäne c),

- (b) Nukleinsäuresequenzen, die mit dem Gegenstrang einer Nukleinsäuresequenz nach (a) hybridisieren und für ein Polypeptid kodieren, das die immunologischen Eigenschaften wenigstens einer Domäne eines Hämocyanins aufweist;
- (c) Nukleinsäuresequenzen, die aufgrund des genetischen Codes zu den unter (a) und (b) definierten DNA-Sequenzen degeneriert sind und für ein Polypeptid kodieren, das die immunologischen Eigenschaften wenigstens einer Domäne eines Hämocyanins aufweist;
- (d) Nukleinsäuresequenzen, die mit einer der unter (a) bis (c) angegebenen Nukleinsäuresequenzen hybridisieren und deren Gegenstrang für ein Polypeptid kodiert,

das die immunologischen Eigenschaften wenigstens einer Domäne eines Hä-mocyanins aufweist;

(e) Nukleinsäuresequenzen, die wenigstens 60 % homolog zu einer der unter (a) angegebenen Nukleinsäuresequenzen sind;

~~(f) Varianten der unter (a) bis (e) angegebenen Sequenzen, wobei die Varianten Additionen, Deletionen, Insertionen oder Inversionen aufweisen und für ein Polypeptid kodieren, das die immunologischen Eigenschaften wenigstens einer Domäne von Hämocyanin aufweist; und~~

(g) Kombinationen mehrerer der unter (a) bis (f) angegebenen DNA-Sequenzen.

Im nachfolgenden werden einige Begriffe näher erläutert, um klarzustellen, wie sie im Zusammenhang der vorliegenden Anmeldung verstanden werden sollen.

Der Begriff "Hämocyanin", so, wie er nachfolgend in der Beschreibung verwendet wird, umfaßt vollständiges Hämocyanin, Hämocyanin-Domänen und/oder Fragmente, Hämocyanin-Mutanten und Fusionsproteine. In bezug auf die Fusionsproteine sind insbesondere solche umfaßt, bei denen die Fusion Hämocyanin und Antigene umfaßt.

Unter „Domänen“ werden funktionelle Teilsequenzen der Hämocyanin-Untereinheiten verstanden, die beispielsweise durch limitierte Proteolyse voneinander abgetrennt werden können. Weiterhin können sie unterschiedliche immunologische Eigenschaften aufweisen.

Mit den „immunologischen Eigenschaften wenigstens einer Domäne von Hämocyanin“ ist die Eigenschaft eines Polypeptids gemeint, in gleicher Weise wie wenigstens eine Domäne von Hämocyanin eine immunologische Antwort des Empfängers zu induzieren, der mit dem Polypeptid immunisiert wird. Unter „immunologischer Antwort“ werden hier T- und/oder B-Zell-Antworten gegen Hämocyanin-Epitope verstanden, wie beispielsweise eine Antikörperproduktion. Die immunologische Reaktion kann beispielsweise beob-

achtet werden durch Immunisieren eines Säugers, wie z.B. einer Maus, einer Ratte oder eines Kaninchens mit dem entsprechenden Polypeptid und Vergleich der Immunantwort auf das zur Immunisierung verwendete Polypeptid mit der Immunantwort auf natürliche Hämocyane.

Der Begriff "Antigen" umfaßt erfindungsgemäß sowohl Haptene, als auch schwache und starke Antigene. ~~Haptene sind dadurch charakterisiert, daß sie Substanzen niedriger Molekülmasse (kleiner als 4000 Da) sind, jedoch ohne Kopplung an ein Trägermolekül nicht in der Lage sind, eine immunologische Reaktion auszulösen.~~ Schwache Antigene sind Substanzen, die selbst bereits eine immunologische Reaktion auslösen können, deren Potential, eine immunologische Reaktion auslösen zu können, durch Kopplung mit einem Träger-Molekül auf Protein- und/oder DNA-Ebene, noch erhöht werden kann.

"His-Tag" bedeutet eine Sequenz von wenigstens 6 Histidin-Aminosäuren, die durch entsprechende Klonierung und Fusion mit einer exprimierbaren Sequenz zu einem Fusionsprotein mit wenigstens 6 His-Resten am  $\text{NH}_2$ -Terminus führt, das leicht durch Komplexierung mit einer  $\text{Ni}^{2+}$ -Säule aufgereinigt werden kann.

"Klonierung" soll alle im Stand der Technik bekannten Klonierungsmethoden umfassen, die hier zum Einsatz kommen könnten, die jedoch nicht alle im einzelnen beschrieben werden, weil sie zum selbstverständlichen Handwerkszeug des Fachmanns gehören.

Unter "rekombinanter Expression in einer geeigneten Wirtszelle" sollen alle im Stand der Technik bekannten Expressionsmethoden in bekannten Expressionssystemen verstanden werden, die hier zum Einsatz kommen könnten, jedoch nicht alle im einzelnen beschrieben werden, weil sie zum selbstverständlichen Handwerkszeug des Fachmanns gehören.

Die im erfindungsgemäßen Nukleinsäuremolekül enthaltene Nukleinsäuresequenz kann genomische DNA, cDNA oder synthetische DNA sein, wobei unter synthetischen DNA-Sequenzen auch solche verstanden werden, die modifizierte Internukleosid-Bindungen enthalten. Weiter kann es sich bei den Nukleinsäuresequenzen um RNA-Sequenzen

handeln, was z.B. für die Expression mittels rekombinanter Vektorsysteme erforderlich sein kann. Die Nukleinsäuresequenzen gemäß (b) sind beispielsweise erhältlich durch Verwenden einer nachweisbar markierten Sonde, die einer der unter (a) angegebenen Sequenzen oder einem Fragment bzw. deren Gegenstrang entspricht, zum Screening von cDNA-/genomischen DNA-Bibliotheken aus Mollusken oder Arthropoden. Die der cDNA-Bibliothek zugrundeliegende mRNA ist vorzugsweise aus Mollusken-Geweben zu erhalten, die Hämocyanin besonders stark exprimieren, wie z.B. Mantel-Gewebe aus Gastropoden und Branchialdrüsengewebe aus Cephalopoden.

Die Identifizierung positiver cDNA-/genomischer DNA-Klone erfolgt gemäß Standardverfahren. Vgl. Maniatis et al., Molecular Cloning (1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press.

In einer bevorzugten Ausführungsform wird die unter (b) oder (d) angegebene Hybridisierung unter stringenten Bedingungen durchgeführt. Stringente Hybridisierungsbedingungen sind z.B. 68°C über Nacht in 0,5 x SSC; 1% Blockierungsreagenz (Boehringer Mannheim); 0,1 % Natriumlaurylsarcosinat und nachfolgendem Waschen mit 2 x SSC; 0,1 % SDS.

In einer bevorzugten Ausführungsform werden Nukleinsäuresequenzen bereitgestellt, die wenigstens 60 % homolog zu einer der unter (a) angegebenen Nukleinsäuresequenzen sind. Bevorzugt sind die Nukleinsäuresequenzen wenigstens 80 % homolog zu einer der unter (a) angegebenen Nukleinsäuresequenzen. Besonders bevorzugt sind die Nukleinsäuresequenzen wenigstens 90 % homolog zu einer der unter (a) angegebenen Nukleinsäuresequenzen. Insbesondere sind die Nukleinsäuresequenzen wenigstens 95 % homolog zu einer der unter (a) angegebenen Nukleinsäuresequenzen.

Erfindungsgemäß bedeutet der Ausdruck „Homologie“ Homologie auf DNA-Ebene, die gemäß bekannter Verfahren, z.B. der computergestützten Sequenzvergleiche (Basic local alignment search tool, S.F. Altschul et al., J. Mol. Biol. 215 (1990), 403-410) bestimmt werden kann.

In einer bevorzugten Ausführungsform ist die erfindungsgemäße DNA-Sequenz eine Kombination mehrerer der unter (a) bis (f) angegebenen DNA-Sequenzen, die durch dem Fachmann bekannte Fusion und gegebenenfalls Klonierung erhalten werden können. Diese Kombination sind von besonderem Interesse, da sie besonders immunogen sind. Insbesondere sind Kombinationen bevorzugt, die mehrere oder alle Domänen in der in der Untereinheit natürlicherweise vorkommenden Reihenfolge (a bis h) aufweisen.

~~Besonders bevorzugt sind dabei Ausführungsformen, in denen die für die Domänen~~  
kodierenden Nukleinsäuresequenzen direkt im Raster aneinandergesetzt sind.

Weiterhin werden Konstrukte bereitgestellt, die die erfindungsgemäßen Nukleinsäuremoleküle umfassen. In einer bevorzugten Ausführungsform umfaßt das erfindungsgemäße Konstrukt einen zur Expression geeigneten Promotor, wobei die Nukleinsäuresequenz unter der Kontrolle des Promotors steht. Die Wahl des Promotors hängt vom zur Expression verwendeten Expressionssystem ab. Generell sind konstitutive Promotoren bevorzugt, jedoch sind auch induzierbare Promotoren wie z.B. der Metallothionein-Promotor möglich.

In einer weiterhin bevorzugten Ausführungsform umfaßt das Konstrukt ferner eine Antigen-kodierende Nukleinsäuresequenz, die direkt mit der erfindungsgemäßen Hämocyanin-Nukleinsäure verbunden ist. Die Antigen-kodierende Sequenz kann sowohl 5' als auch 3' relativ zur Hämocyanin-Sequenz oder auch an beiden Enden gelegen sein. Sie schließt im gleichen Leseraster entweder unmittelbar an die Hämocyanin-Sequenz an oder ist durch einen Nukleinsäure-Linker unter Wahrung des Leserasters mit ihr verbunden. Durch die Fusion der Antigen-kodierenden Sequenz mit der Hämocyanin-Sequenz ist die Bildung eines Fusionsproteins beabsichtigt, in dem die Antigen-kodierende Sequenz kovalent mit der Hämocyanin-Sequenz verbunden ist. Das erfindungsgemäße Antigen ist hierbei ein medizinisch relevantes Antigen, das beispielsweise ausgewählt ist aus: Tumorantigenen, Virusantigenen und Antigenen bakterieller oder parasitärer Pathogene. Tumorantigene können hierbei beispielsweise Rb und p53 sein. Vorzugsweise stammen die Virusantigene aus immunologisch relevanten Viren, wie z.B. Influenza-Virus, Hepatitis-Virus und HIV. Pathogenantigene sind unter anderem solche aus Säugerpathogenen, insbesondere humanpathogenen Organismen, wie z.B.

Plasmodium. Bakterielle Antigene können z.B. von *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *E. coli*, *Vibrio cholerae*, *Chlamydia*, *Streptococci* oder *Staphylococci* stammen.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform umfaßt das Konstrukt ferner wenigstens ein Teil eines Vektors, insbesondere regulatorische Regionen, wobei der Vektor ausgewählt ist aus : Bacteriophagen wie  $\lambda$ -Derivaten, Adenoviren, Vacciniaviren, Baculoviren, SV40-Viren und Retroviren, vorzugsweise MoMuLV (Moloney Murine Leukemia Virus).

---

Ferner ist ein Konstrukt bevorzugt, das zusätzlich eine His-Tag-kodierende DNA-Sequenz umfaßt, die bei Expression des Konstrukts zur Bildung eines Fusionsproteins mit einem His-Tag am NH<sub>2</sub>-Terminus des Hämocyanins führt, welches die Aufreinigung des Proteins an einer Nickel-Säule durch Chelat-Bildung erleichtert.

Ferner stellt die Erfindung Wirtszellen bereit, die das Konstrukt enthalten und die zur Expression des Konstruktes geeignet sind. Im Stand der Technik sind zahlreiche prokaryontische und eukaryontische Expressionssysteme bekannt, wobei die Wirtszellen beispielsweise ausgewählt sind aus prokaryontischen Zellen wie *E. coli* oder *B. subtilis*, aus eukaryontischen Zellen wie Hefezellen, Insektenzellen und Säugerzellen, z.B. CHO-Zellen, COS-Zellen oder HeLa-Zellen, sowie Derivaten davon. Im Stand der Technik sind beispielsweise bestimmte CHO-Produktionslinien bekannt, deren Glykosylierungsmuster im Vergleich zu CHO-Zellen verändert sind. Die durch die Verwendung Glykosylierungs-defizienter oder Glykosylierungs-verringelter Wirtszellen erhaltenen Hämocyanine verfügen möglicherweise über zusätzliche Epitope, die bei vollständiger Glykosylierung ansonsten dem Immunsystem des Empfängers nicht zugänglich sind, so daß Hämocyanine mit verringerter Glykosylierung unter Umständen eine erhöhte Immunogenizität aufweisen.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist weiter ein Verfahren zum Herstellen eines Hämocyanin-Polypeptids. Dazu wird das erfindungsgemäße Nukleinsäuremolekül und/oder das Konstrukt in einer geeigneten Wirtszelle exprimiert und das Protein aus der Wirtszelle oder dem Medium mittels üblicher Verfahren isoliert.

Dem Fachmann sind zahlreiche Verfahren zur Expression von DNA-Sequenzen bekannt; vergleiche Recombinant Gene Expression Protocols in Methods in Molecular Biology, Band 62, Humana Press Totowa New Jersey (1995). Die Expression kann sowohl konstitutiv als auch induzierbar sein, wobei Induktoren wie beispielsweise IPTG und  $Zn^{2+}$  dem Fachmann bekannt sind. Das hergestellte Hämocyanin kann, falls ein His-Tag an den  $NH_2$ -Terminus des Hämocyanin fusioniert wurde, durch Chelat-Bildung an einer Nickel-Säule aufgereinigt werden. Verfahren zum Aufreinigen von Hämocyanin, insbesondere KLH, finden sich in Harris et al., Micron 26 (1995), 201-212. Vorzugsweise wird das Hämocyanin durch Ionenaustausch-Chromatographie und/oder Gelfiltrationschromatographie aufgereinigt. Die Durchführung dieser Maßnahmen ist dem Fachmann bekannt.

In einer weiteren bevorzugten Ausführungsform wird das erfindungsgemäß hergestellte Hämocyanin modifiziert. Die Modifikationen umfassen hierbei die Di-, Oligo- und Polymerisierung des monomeren Ausgangsprodukts beispielsweise durch Quervernetzung, z.B. durch Dicyclohexylcarbodiimid oder Pegylierung oder Assoziation (self assembly). Die somit hergestellten Di-, Oligo- und Polymere können voneinander durch Gelfiltration abgetrennt werden. Insbesondere beabsichtigt ist die Bildung von Dekameren, Didekameren oder Multi-Dekameren. Weitere Modifikationen umfassen Seitenketten-Modifikationen, beispielsweise von  $\epsilon$ -Amino-Lysin-Resten des Hämocyanins, oder Amino- bzw. Carboxy-terminale Modifikationen. Besonders bevorzugt ist die Modifikation des Hämocyanins durch kovalente Bindung an ein Antigen, wobei das Antigen stöchiometrisch oder nicht-stöchiometrisch mit dem Hämocyanin umgesetzt sein kann. Das Antigen ist vorzugsweise ausgewählt aus Tumorantigenen, Virusantigenen und Pathogenantigenen wie oben ausgeführt. Weitere Modifikationen umfassen posttranslationale Ereignisse, z.B. die Glykosylierung oder die partielle oder vollständige Deglykosylierung des Proteins.

In einer bevorzugten Ausführungsform ist das erhaltene Hämocyanin bei rekombinanter Expression in Prokaryonten oder Glykosylierungs-defizienten Eukaryonten nicht-glykosyliert. Ebenfalls in Betracht gezogen wird erfindungsgemäß Hämocyanin, das durch rekombinante Expression in zur Glykosylierung fähigen Eukaryonten wie Hefezel-

len, Insektenzellen oder Säugerzellen, wie CHO-Zellen oder HeLa-Zellen, glykosyliert ist.

In einer weiteren Ausführungsform werden Hämocyanin-Polypeptide zur Verfügung gestellt, die eine Aminosäuresequenz umfassen, wobei die Aminosäuresequenz von einer oder mehreren der erfindungsgemäßen Nukleinsäuremoleküle kodiert wird.

Bevorzugt werden Hämocyanin-Polypeptide zur Verfügung gestellt, die wenigstens eine aus der folgenden Gruppe ausgewählte Aminosäuresequenz umfassen:

SEQ ID NO:20 (HtH1 Domäne b),  
SEQ ID NO:21 (HtH1 Domäne c),  
SEQ ID NO:22 (HtH1 Domäne d),  
SEQ ID NO:23 (HtH1 Domäne e),  
SEQ ID NO:24 (HtH1 Domäne f),  
SEQ ID NO:25 (HtH1 Domäne g),  
SEQ ID NO:26 (HtH1 Domäne h),  
SEQ ID NO:27 (partielle HtH2 Domäne b),  
SEQ ID NO:28 (HtH2 Domäne c),  
SEQ ID NO:29 (HtH2 Domäne d),  
SEQ ID NO:30 (HtH2 Domäne e),  
SEQ ID NO:31 (HtH2 Domäne f),  
SEQ ID NO:32 (HtH2 Domäne g),  
SEQ ID NO:33 (HtH2 Domäne h),  
SEQ ID NO:34 (partielle KLH1 Domäne c),  
SEQ ID NO:35 (KLH1 Domäne d),  
SEQ ID NO:36 (partielle KLH1 Domäne e),  
SEQ ID NO:37 (KLH2 Domäne b),  
SEQ ID NO:38 (KLH2 Domäne c),

oder ein Fragment einer dieser Sequenzen, das die immunologischen Eigenschaften wenigstens einer Domäne von Hämocyanin aufweist.



In einer weiteren Ausführungsform stellt die Erfindung Hämocyanin-Polypeptide, erhältlich durch das rekombinante Herstellungsverfahren oder Modifikationen davon, bereit.

Bevorzugt sind Hämocyanin-Polypeptide, die jede der Sequenzen SEQ ID NO: 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26 umfassen, und Hämocyanin-Polypeptide, die die Sequenzen SEQ ID NO: 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33 umfassen. Besonders bevorzugt handelt es sich bei diesen Hämocyanin-Polypeptiden um Hämocyanin 1 oder 2 aus *Haliotis tuberculata*.

Insbesondere bevorzugt ist Hämocyanin 1 aus *Haliotis tuberculata*, das ein scheinbares Molekulargewicht von 370 kDa in SDS-PAGE unter reduzierenden Bedingungen aufweist. Weiterhin ist insbesondere Hämocyanin 2 aus *Haliotis tuberculata* bevorzugt, das ein scheinbares Molekulargewicht von 370 kDa in SDS-PAGE PAGE unter reduzierenden Bedingungen aufweist. Die Hämocyanine sind durch das in den Beispielen beschriebene selektive Dissoziationsverfahren aus Gesamt-Hämocyanin aus *Haliotis tuberculata* erhältlich.

Weiterhin bevorzugt sind Hämocyanin-Polypeptide, die jede der Sequenzen SEQ ID NO: 34, 35 und 36 umfassen, und Hämocyanin-Polypeptide, die jede der Sequenzen SEQ ID NO: 37 und 38 umfassen.

Besonders bevorzugt handelt es sich bei diesen Hämocyanin-Polypeptiden um vollständiges Hämocyanin 1 (KLH1) oder 2 (KLH2) aus *Megathura crenulata*.

Weiterhin wird nicht-glykosyliertes und glykosyliertes Hämocyanin-Polypeptid, erhältlich durch Expression in zur Glykosylierung fähigen bzw. unfähigen Wirtszellen, bereitgestellt. Je nach vorgesehener Verwendung des Hämocyanin-Polypeptids kann das Glykosylierungsmuster von Hefe, insbesondere methylotropher Hefe, von COS- oder HeLa-Zellen bevorzugt sein.

Die Erfindung betrifft weiterhin pharmazeutische Zusammensetzungen, die die erfindungsgemäßen Nukleinsäuremoleküle und physiologisch verträgliche Zusatzstoffe, die im Stand der Technik bekannt sind, enthalten. Vorzugsweise werden die pharmazeuti-

schen Zusammensetzungen zur unspezifischen Immunstimulierung in Form einer Gentherapie eingesetzt, wobei nach Transformation mit einem geeigneten Vektor Hämocyanin-Polypeptide exprimiert werden und zur Antigenisierung des Gewebes dienen.

Insbesondere sieht die vorliegende Erfindung die Verwendung eines erfindungsgemäßen Nukleinsäuremoleküls, das mit einer Antigen-kodierenden DNA-Sequenz verbunden ist, zur spezifischen Immunisierung gegen dieses Antigen vor. Die Immunisierung beruht hierbei, ohne an diese Theorie gebunden zu sein, auf der unspezifischen Stimulierung des Immunsystems durch Hämocyanin-Polypeptid-Epitope und die weitergehende spezifische Immunisierung durch Erkennung von Antigen-Epitopen durch das Immunsystem.

Eine solche Immunisierung ist besonders wertvoll im Hinblick auf Pathogen-Antigene, ganz besonders aber im Hinblick auf Tumorantigene. Die Anwendbarkeit der erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zusammensetzung zur Behandlung von Tumorerkrankungen ergibt sich auch aus der Kreuzreaktivität der gebildeten Hämocyaninspezifischen Antikörper mit Kohlenhydratresten, die auf der Oberfläche von Tumoren auftreten, wie z.B. dem Thomsen-Friedenreich-Antigen, das bei der Mehrzahl von humanen Tumoren wie Epithelialkarzinomen, Ovarialkarzinom, Kolonrektalkarzinom, Mammakarzinom, Bronchialkarzinom und Harnblasenkarzinom auftritt.

Weiterhin können die erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zusammensetzungen zum Behandeln von parasitären Erkrankungen wie Schistosomiasis und für die Kokain-Mißbrauchsvorsorge eingesetzt werden.

Als weitere Ausführungsform der vorliegenden Erfindung werden pharmazeutische Zusammensetzungen zur Verfügung gestellt, die ein erfindungsgemäßes Hämocyanin-Polypeptid in Verbindung mit einem oder mehreren physiologisch verträglichen Zusatzmitteln enthalten. Wie oben bereits erwähnt, kann ein solches Hämocyanin-Polypeptid aus einer vollständigen Hämocyanin-Untereinheit, aus einer oder mehreren Domänen sowie aus einem oder mehreren Fragmenten solcher Domänen bestehen, vorausgesetzt, daß diese Fragmente noch die immunologischen Eigenschaften wenigstens

einer Domäne eines Hämocyanins aufweist. Eine solche pharmazeutische Zusammensetzung eignet sich durch die entweder unspezifische Immunstimulation, die allein auf das Hämocyanin zurückzuführen ist, oder durch die spezifische Immunreaktion auf mit dem Hämocyanin assoziierte Antigene z.B. als Antiparasitenmittel, Antivirusmittel oder Antitumormittel. So kann sie z.B. zum Behandeln von Schistosomiasis, Epithelialkarzinomen, Ovarialkarzinom, Kolonrektalkarzinom, Mammakarzinom, Bronchialkarzinom und Harnblasenkarzinomen eingesetzt werden, eignet sich jedoch auch zum Behandeln von Bluthochdruck. Die Behandlung von Bluthochdruck wird erreicht, indem eine Immunisierung mit Hilfe von erfindungsgemäßen Hämocyanin- $\beta$ -adrenergen-Rezeptorpeptid-Konstrukten und/oder Fusionsproteinen durchgeführt wird.

In einer weiteren Ausführungsform werden die erfindungsgemäßen pharmazeutischen Zusammensetzungen als Impfstoffe verwendet. Sie können somit einen wertvollen Beitrag zur Prophylaxe von durch bekannte Pathogene verursachte Erkrankungen leisten. Dies gilt insbesondere für pharmazeutische Zusammensetzungen, in denen ein Hämocyanin-Polypeptid an ein Virus, Virusbestandteil, abgetötete Bakterien, Bakterienbestandteile, insbesondere Oberflächenproteine aus Virus- oder Bakterienhüllen, DNA, DNA-Bestandteile, anorganische oder organische Moleküle, z.B. Kohlenhydrate, Peptide und/oder Glykoproteine gebunden ist.

Gemäß einer weiteren bevorzugten Ausführungsform wird die erfindungsgemäße pharmazeutische Zusammensetzung zur Kokain-Mißbrauchsvorsorge verwendet.

Zur Applikation sowohl der erfindungsgemäßen Nukleinsäuremoleküle als auch der Hämocyanin-Polypeptide eignen sich insbesondere Liposomen. Dementsprechend umfaßt die vorliegende Erfindung Liposomen, die ein erfindungsgemäßes Nukleinsäuremolekül, ein erfindungsgemäßes Konstrukt oder ein erfindungsgemäßes Hämocyanin-Polypeptid umfassen.

Dem Fachmann sind verschiedene Verfahren zum Herstellen von Liposomen, die für pharmazeutische Zwecke verwendbar sind, bekannt. Die Selektivität der die erfindungsgemäßen Nukleinsäuremoleküle oder Hämocyanin-Polypeptide enthaltenden Liposo-

men kann durch den zusätzlichen Einbau von Zellerkennungsmolekülen in die Liposomen erhöht werden, die selektiv an Zielzellen binden. Hierzu eignen sich insbesondere Rezeptorliganden, die an Rezeptoren der Zielzellen binden, oder, besonders im Fall von Tumoren, Antikörper, die gegen Oberflächenantigene der jeweils anvisierten Zielzellen gerichtet sind.

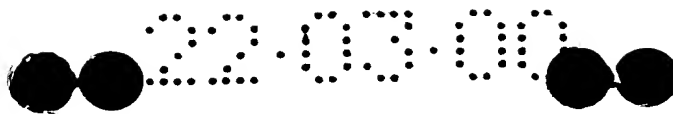
~~Die erfindungsgemäßen Hämocyanin-Polypeptide sind außerdem als Trägermolekül für~~  
Arzneistoffe, wie z. B. Cytostatika, vorgesehen. Die Vergrößerung des Molekulargewichtes verlängert die physiologische Halbwertszeit der Arzneistoffe erheblich, da der Verlust durch Ultrafiltration in der Niere deutlich verringert ist.

Die Zubereitung der Impfstoffe erfolgt nach dem Fachmann bekannten Verfahren; in einigen Ausführungsformen ist die zusätzliche Verwendung von Adjuvanzen wie z. B. Freundsches Adjuvanz oder Polysacchariden vorgesehen.

Die Erfindung stellt ferner Antikörper bereit, die spezifisch mit dem erfindungsgemäßen Hämocyanin-Polypeptid reagieren und erhältlich sind durch Immunisieren eines Versuchstieres mit einem Hämocyanin-Polypeptid. Polyklonale Antikörper können durch Immunisieren beispielsweise von Kaninchen und anschließendem Gewinnen von Antisera erhalten werden. Monoklonale Antikörper können gemäß Standardverfahren durch Immunisieren von z.B. Mäusen, Gewinnen und Immortalisieren der Milzzellen und Klonieren der Hybridome, die für Hämocyanin spezifische Antikörper produzieren, erhalten werden.

Weiterhin wird ein Screening-Verfahren zum Identifizieren von Tumor-spezifischer DNA in einer Zelle bereitgestellt, das die Schritte umfaßt:

- a) das Inkontaktbringen zellulärer DNA und/oder zellulären Proteins mit einer Sonde umfassend das erfindungsgemäße Nukleinsäuremolekül und/oder den erfindungsgemäßen Antikörper und
- b) das Nachweisen der spezifischen Bindung.



Vorzugsweise ist der nachzuweisende Tumor ein Harnblasenkarzinom, Epithelialkarzinom, Ovarialkarzinom, Mammakarzinom, Bronchialkarzinom oder Kolonrektalkarzinom.

Es ist beabsichtigt, mit den nachfolgenden Figuren und Beispielen die Erfindung zu erläutern, diese jedoch in keiner Weise einzuschränken. Dem Fachmann sind aufgrund der Beschreibung und der Beispiele weitere Ausführungsformen zugänglich, die ebenfalls umfaßt sind.

Fig. 1 zeigt die Charakterisierung und Aufreinigung von *Halotis tuberculata* Hämocyanin (HtH):

- (a) Elektronenmikroskopie von negativ gefärbtem Gesamt-HtH, das durch Ultrazentrifugation von Zell-freier Hämolymphe aufgereinigt wurde;
- (b) SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese (7,5 % Polyacrylamid) von HtH1 im Vergleich zu KLH (MW 370 kDa);
- (c) Native Polyacrylamid-Gelelektrophorese (5 % Polyacrylamid) der HtH-Untereinheiten-Präparation, wobei die Anode am unteren Rand liegt;
- (d) Gekreuzte Immunelektrophorese der beiden HtH-Untereinheiten unter Verwendung von anti-HtH-Antikörpern aus Kaninchen;
- (e) Elektronenmikroskopie der verbleibenden HtH1-Didekamere (weiße Pfeile) nach der selektiven Dissoziation von HtH2 (schwarze Pfeile);
- (f) Elutionsprofil der Gelfiltrationschromatographie (Biogel A15m) in Gegenwart von Ammoniummolybdat/Polyethylenglykol-Lösung (pH 5,9) nach der selektiven Dissoziation von HtH2 in seine Untereinheit und nachfolgender Anreicherung von HtH1 durch Ultrazentrifugation;
- (g) Native Polyacrylamid-Gelelektrophorese (6,5 % Polyacrylamid) von durch Gelchromatographie aufgereinigten HtH1- und HtH2-Untereinheiten im Vergleich zum Ausgangsmaterial;
- (h,i) Gekreuzte Immunelektrophorese von chromatographisch aufgereinigten HtH-Untereinheiten; und

- (j,m) Gekreuzte Immunelektrophorese der aufgereinigten HtH-Untereinheiten unter Verwendung von anti-KLH-Antikörpern aus Kaninchen, die für KLH1 bzw. KLH2 spezifisch sind.

Fig. 2 zeigt die Untersuchung der Untereinheiten-Organisation von HtH1, wobei für die Immunelektrophorese anti-HtH1-Antikörper aus Kaninchen verwendet wurden und die Anode sich auf der linken Seite befand:

- (a) Gekreuzte Immunelektrophorese nach limitierter Proteolyse von HtH1 mit Hilfe von Elastase;
- (b) SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese (7,5 % Polyacrylamid) von Elastase-gespaltener HtH1-Untereinheit;
- (c,d,g-j,l,n,p) Gekreuzte Immunelektrophorese der Elastase-Spaltprodukte der HtH1-Untereinheit;
- (e) Gekreuzte Immunelektrophorese nach limitierter Proteolyse von HtH1 mit Hilfe von V8 Protease;
- (f) SDS-Polyacrylamid-Gelelektrophorese (7,5 % Polyacrylamid) von V8 Protease-gespaltener HtH1-Untereinheit und
- (k,m,o) — Gekreuzte Immunelektrophorese nach limitierter Proteolyse von HtH1 mit Hilfe der drei angegebenen Proteasen.

Fig. 3 zeigt die Auftrennung von proteolytischen Spaltprodukten der Untereinheit HtH1 mit Hilfe von HPLC.

Fig. 4 zeigt die cDNA-Sequenz von HtH1 in Verbindung mit der Intronstruktur.

Fig. 5 zeigt die abgeleitete Primärstruktur von HtH1.

Fig. 6 zeigt die cDNA-Sequenz von HtH2 in Verbindung mit der Intronstruktur.

Fig. 7 zeigt die abgeleitete Primärstruktur von HtH2.

Fig. 8 zeigt die cDNA-Sequenz von KLH1 in Verbindung mit der Intronstruktur.

Fig. 9 zeigt die abgeleitete Primärstruktur von KLH1.

Fig. 10 zeigt die cDNA-Sequenz von KLH2 in Verbindung mit der Intronstruktur.

Fig. 11 zeigt die abgeleitete Primärstruktur von KLH2.

## BEISPIELE

### Material und Methoden

#### 1. Gewinnen der Hämolymphe und Isolieren von Hämocyanin

Individuen des europäischen Seeohrs *Haliotis tuberculata* aus dem Bereich der französischen Atlantikküste wurden von S.M.E.L (Blainville sur Mer, Frankreich) und der Firma Biosyn (Fellbach, Deutschland) bereitgestellt. Die Tiere wurden in einem 300 l Seewasser-Aquarium bei 17 ° C gehalten und mit Braunalgen gefüttert. Zur Entnahme der Hämolymphe wurden die Seeohren in einem verschlossenen Plastiksack auf Eis gestellt. Nach einer Stunde waren große Volumina an Hämolymphe durch ihre Haut sezerniert worden. Es stellte sich heraus, daß das durch dieses Verfahren erhaltene Hämocyanin identisch ist mit dem Hämocyanin, das durch Einschneiden einer Mulde in den Fuß heruntergekühlter Meeresschnecken unter Verwendung einer Skalpellschneide gesammelt werden konnte. Die Blutzellen wurden von der Hämolymphe durch Zentrifugation bei 800 g über 30 min bei 4 ° C abgetrennt. Das gesamte Hämocyanin wurde sofort danach durch präparative Ultrazentrifugation bei 30000 g über 4 Stunden bei 4 ° C sedimentiert. Der Überstand wurde verworfen und das blaue Hämocyanin-Pellet wurde über Nacht in "Stabilisierungs-Puffer" (0,05 M Tris, 5 mM CaCl<sub>2</sub>, 5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,15 M NaCl, 1 mM PMSF, pH 7,4) suspendiert und bei 4 ° C gelagert.

Intaktes HtH1 wurde unter Verwendung des von Harris et al., 1995, supra, beschriebenen Verfahrens aus dem gesamten HtH durch selektive Dissoziation von HtH2 in Ammoniummolybdat/Polyethylenglykol (1%/0,2%)-Lösung, pH 5,9 und nachfolgender Ultra-

zentrifugation erhalten. Das entstandene, teilweise aufgereinigte HtH1-Pellet wurde aufgelöst und durch Gelfiltration auf einer Biogel A15m-Vorrichtung zur Homogenität aufgereinigt. Der letzte Schritt ergab geringe Mengen von aufgereinigtem HtH2. Natives HtH1 und HtH2 wurde durch Dialyse gegen "Dissoziationspuffer" (0,13 M Glycin/NaOH, pH 9,6) bei 4 ° C über Nacht quantitativ in die Untereinheiten dissoziiert; die Gegenwart von EDTA war nicht erforderlich. 1 mM PMSF wurde bei jeder Stufe der Aufreinigung hinzugefügt, um die Proteolyse zu hemmen.

## 2. Elektronenmikroskopie

Konventionelles "negative staining" wurde mit dem Einzel-Tropfen-Verfahren (Harris und Horne in Harris, J.R. (Herausgeber) Electron microscopy in biology, (1991), IRL Press Oxford, S. 203-228) durchgeführt. Kohlenstoffträger-Filme wurde anfänglich über 20 Sekunden glühentladen, um sie hydrophil und für das Protein adsorptiv zu machen. Man läßt die Proteinproben an den Kohlenstofffilmen über 60 Sekunden adsorbieren. Sodann werden die Puffersalze durch sequentielles Waschen mit vier aufeinanderfolgenden 20 µl Wassertropfen entfernt. Die Gitter werden schließlich mit einem 20 µl Tropfen 5 % wäßrigen Ammoniummolybdats, enthaltend 1 % Trehalose (pH 7,0) negativ-gefärbt und bei Raumtemperatur trocknen gelassen. Für die elektronenmikroskopische Untersuchung wird ein Zeiss EM 900 Transmissionselektronenmikroskop verwendet.

## 3. Polyacrylamid-Gel-Elektrophorese und Immunelektrophorese

SDS-Polyacrylamid-Gel-Elektrophorese (SDS-PAGE) wurde gemäß des Verfahrens von Laemmli (Nature 227 (1970), 670-685) durchgeführt. Zur nativen PAGE wurde ein alkalisches System gemäß Markl et al. (1979) J. Comp. Physiol. 133 B, 167-175 mit einem 0,33 M Tris/Borat, pH 9,6 als Gelpuffer und 0,065 M Tris/Borat, pH 9,6 als Elektrodenspuffer verwendet. Gekreuzte und "crossed-line" Immunelektrophorese (IE) wurden gemäß Weeke (Scand. J. Immunol. 2 (1973), Suppl. 1, 47-56) bzw. Kroll (Scand. J. Immunol. 2, Suppl. 1 (1973), 79-81) durchgeführt. Kaninchenantikörper wurden von Charles River Deutschland (Kisslegg, Deutschland) gegen dissoziiertes Gesamt-HtH und aufge-



reinigtes HtH1 erzeugt. Das Immunisierungsverfahren wurde durchgeführt gemäß Markl und Winter (J. Comp. Physiol. 159B (1989), 139-151).

#### 4. Limitierte Proteolyse und Isolierung der Fragmente

Die limitierte Proteolyse wurde bei 37 ° C in 0,13 M Glycin/NaOH, pH 9,6 durch Hinzufügen eines der nachstehenden Enzyme (Sigma, Deisenhofen, Deutschland), die in 0,1 M  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ , pH 8,0 gelöst waren, durchgeführt: *Staphylococcus aureus* V8-Protease Typ XVII (8400), Papain Typ II aus Papaya-Milch (P-3125), Rinder-Pankreas-Elastase Typ IV (E-0258), Chymotrypsin und Trypsin. Die Hämocyanin-Konzentration lag zwischen 1 und 10 mg/ml. Die Endkonzentration des Enzyms betrug 2 % (Gewicht/Gewicht). Die Proteolyse wurde nach 5 Stunden durch Einfrieren auf -20 ° C beendet. Das HPLC-Verfahren wurde auf einer Vorrichtung von Applied Biosystems (BAI, Bensheim, Deutschland) durchgeführt, die mit einem Modell-1000S-Dioden-Array-Detektor ausgestattet war. Die proteolytischen Fragmente wurden auf kleine Mono-Q-Anionenaustauscher-Säule aufgetragen (Pharmacia, Freiburg, Deutschland), die mit 0,02 M Tris/HCl, pH 8,0 äquilibriert worden war und mit einem linearen Natriumchlorid-Gradienten (0,0 M - 0,5 M CaCl) im gleichen Puffer bei einer Flußrate von 1 ml/min eluiert wurden. Alternativ wurden die proteolytischen Fragmente durch Ausschneiden der Banden aus nativen PAGE-Gelen (Markl et al., 1979) J. Comp. Physiol. 133 B, 167-175 isoliert, nachdem sie zuvor mit dem Roti-White-System (Roth, Karlsruhe, Deutschland) gemäß Fernandez-Patron et al. (1995) Anal. Biochem. 224, 203-211 invers-gefärbt worden waren. Zur nachfolgenden Spaltung mit einem zweiten Enzym wurden die isolierten Fragmente zuerst Übernacht gegen 0,13 M Glycin/NaOH, pH 9,6 dialysiert, um NaCl zu entfernen.

#### 5. Aminosäuresequenzanalyse

Die durch das HPLC-Verfahren erhaltenen Proteine wurden in SDS-enthaltendem Probenpuffer denaturiert und durch SDS-PAGE (Laemmli, 1970, supra; 7,5 % Polyacrylamid) aufgetrennt. Um die Blockierung des  $\text{NH}_2$ -Terminus zu verhindern wurde 0,6 % (Gewicht/Gewicht) Thioglykolsäure zum Kathodenpuffer (Walsh et al., Biochemistry 27

(1988), 6867-6876) hinzugefügt. Die Proteinbanden wurden durch Elektro-Transfer auf ProBlot-Membranen (Applied Biosystems, Deutschland) in einer vertikalen Blotting-Kammer übertragen (25 mM Borat-Puffer, pH 8,8, enthaltend 2 mM EDTA; 10 min/100 mA, 15 min/200 mA, 12 h/300 mA). Der Nachweis der einzelnen Polypeptide auf den Membranen wurde mit der Ponceau-S-Färbung durchgeführt. Die interessierenden Polypeptid-Banden wurden ausgeschnitten und in einer 477A-Protein-Sequenzier-Vorrichtung von Applied Biosystems sequenziert. Die Mengen der auf die Sequenziervorrichtung aufgetragenen Polypeptide lag im unteren pmol-Bereich.

## 6. cDNA-Klonierung und Sequenzanalyse

Eine Lambda-cDNA-Expressionsbibliothek wurde aus Poly(A<sup>+</sup>)-RNA aus *Halotis* Mantelgewebe unter Verwendung des Vektors Lambda ZAP Express<sup>®</sup> gemäß den Herstelleranweisungen (Stratagene, Heidelberg, Deutschland) hergestellt. Die Klone wurden unter Verwendung von HtH-spezifischen Kaninchenantikörpern isoliert. Die Nukleotidsequenzierung wurde auf beiden Strängen unter Verwendung des Taq Dye deoxy Terminator<sup>®</sup>-Systems durchgeführt. Die Anordnung der Sequenzen wurde mit der Software CLUSTAL W (1.7)<sup>®</sup> und TREEVIEW<sup>®</sup> (Thompson et al., Nucl. Acids Res. 22 (1994), 4673-4680) durchgeführt.

### Beispiel 1:

#### **Isolierung von HtH und Auftrennung zweier unterschiedlicher Typen (HtH1 und HtH2)**

Die Hämolymphe wurde aus adulten Seeohren gewonnen. Die Blutzellen wurden durch Zentrifugation entfernt und das Hämocyanin wurde sodann durch Ultrazentrifugation sedimentiert. Das blaue Hämocyanin-Pellet wurde in "Stabilisierungspuffer" (pH 7,4) wieder aufgelöst und in der Elektronenmikroskopie untersucht (Figur 1a). Es bestand hauptsächlich aus typischen Di-Dekameren, begleitet von einem kleinen Anteil an Dekameren und Tridekameren. Die Denaturierung in 2 % SDS in Gegenwart reduzierender Substanzen und anschließender SDS-PAGE-Trennung ergab eine einzige Bande, die dem Polypeptid mit einem scheinbaren Molekulargewicht von 370 kDa entsprach, welches nur geringfügig unterhalb des scheinbaren Untereinheiten-Gewichts von KLH

(Figur 1b) liegt. Die vollständige Dissoziation der Oligomere wie der Di-Dekamere in die nativen Polypeptide (Untereinheiten) wurde erreicht durch Übernacht-Dialyse von HtH gegen "Dissoziationspuffer" (pH 9,6). Natives PAGE-Verfahren, das auf diese Proben angewendet wurde, ergab eine Haupt- und eine Neben-Komponente (Figur 1c). Die gekreuzte Immunelektrophorese (gekreuzte IE) unter Verwendung von gegen aufgereinigtes Gesamt-HtH-erzeugten polyklonalen Kaninchen-Antikörpern zeigte zwei Komponenten, die immunologisch unterschiedlich sind, jedoch die klassische Reaktion einer teilweise immunologischen Identität aufweisen (Figur 1d). Ihre präparative Isolierung (Figur 1e-i) zeigte, daß sie die Untereinheiten von zwei unterschiedlichen HtH-Typen darstellen, bezeichnet als HtH1 und HtH2, und die Muster der nativen PAGE- und gekreuzten IE-Verfahren konnten jeder einzelnen zugeordnet werden (Figur 1c, d).

Die Auftrennung von HtH1 und HtH2 wurde gemäß des Verfahrens zur selektiven Dissoziation gemäß Harris et al., 1995, supra, durchgeführt. In Ammoniummolybdat/Polyethylenglykol war HtH1 im Oligomeren-Zustand (Di-Dekamere) vollständig stabil, wohingegen HtH2 vollständig in die Untereinheiten dissoziierte (Figur 1e). Dies ermöglichte die quantitative Sedimentation von HtH1 in der Ultrazentrifuge, wohin gegen der größte Teil des HtH2 im Überstand verblieb. Aus dem wieder aufgelösten Pellet wurden große Mengen an HtH1 durch Gelfiltrationschromatographie zur Homogenität aufgereinigt, welche auch geringe Mengen an reinem HtH2 ergab (Figur 1f). Die Fraktionen wurden durch native PAGE (Figur 1g) und gekreuzte IE (Figur 1h, i) untersucht. Das Verfahren der selektiven Dissoziation von HtH2 entfernte sämtliche Tri-Dekamere aus den Proben, welches nahelegt, daß die letzteren aus HtH2, jedoch nicht aus HtH1 aufgebaut sind (Figur 1e). Das selektive Dissoziationsverhalten von HtH2 und auch die Fähigkeit, Aggregate zu bilden, die größer als *in vivo* -Di-Dekamere sind, entspricht den Eigenschaften von KLH2. Umgekehrt ähnelt die Stabilität von HtH1 unter diesen Bedingungen und seine Unfähigkeit, sich zu größeren Aggregaten als Di-Dekameren zu assemblieren, dem Verhalten von KLH1. Diese Verwandtschaft wird weiter belegt durch die Reaktion von Anti-KLH1 bzw. Anti-KLH2 Antikörpern gegen die beiden HtH-Typen (Figur 1j-m).

## Beispiel 2:

### Analyse der Organisation der HtH1-Untereinheit

Die acht funktionellen Einheiten (FU's, häufig als "funktionelle Domänen" bezeichnet), die eine Mollusken-Hämocyanin-Untereinheit bilden, unterscheiden sich in der Primärstruktur und weisen keine immunologische Kreuz-Reaktivität auf, wie sich aus gekreuzter IE ergibt. Im Fall der aufgereinigten HtH1 Untereinheit (Figur 1g, h) wurden geringe Konzentrationen fünf unterschiedlicher Proteasen (Elastase, V8-Protease, Papain, Trypsin und Chymotrypsin) verwendet, welche die Peptid-Bindungen zwischen benachbarten FU's von KLH1 und KLH2 gespalten hatten (Gebauer et al., 1994, supra, Söhngen et al., 1997, supra). Die Spaltprodukte wurden durch gekreuzte IE und SDS-PAGE (Fig. 2) untersucht. Elastase-Behandlung erzeugt acht einzelne FU's, abgeleitet aus der Anzahl an unterschiedlichen Immunpräzipitations-Gipfeln in der gekreuzten IE (Fig. 2a) und mit dem scheinbaren Molekulargewicht von ca. 50 kDa des Hauptteils der Spaltprodukte in SDS-PAGE (Fig. 2b). Ein weiterer Präzipitationsgipfel wurde als FU-Dimer erkannt, welches durch unvollständige Spaltung des Segments ab (Fig. 2a) entstand. Durch HPLC-Verfahren mit einer Mono-Q-Säule (Fig. 3a) wurden zwei der Elastase-Spaltprodukte in einer ausreichenden Reinheit erhalten, um durch "crossed-line-IE" ihre klare Zuordnung zu zwei der acht Präzipitationsgipfel (Fig. 2c,d) zu ermöglichen. Die anderen vier Proteasen wiesen unterschiedliche Spaltpattern auf, die aus Gemischen einzelner FU's und größerer Fragmente, enthaltend zwei, drei oder mehrere FU's bestanden (z.B. Fig. 2 e,f). Viele von ihnen waren durch das HPLC-Verfahren in ausreichender Menge angereichert (Fig. 3b-e), um ihre Identifikation in ihren entsprechenden SDS-PAGE- und gekreuzten IE-Mustern zu ermöglichen. Eine Anzahl dieser Komponenten wurde N-terminal durch Blot-Transfer von SDS-Gelen auf ProBlot®-Membrane (Tabelle I) sequenziert. Die Resultate wurden mit N-terminalen Sequenzen verglichen, die aus dem scheinbar orthologen Protein in *Megathura crenulata*, KLH1 (Tabelle I), erhalten worden waren, von dem die vollständige FU-Anordnung verfügbar ist (Söhngen et al., 1997, supra; vgl. Fig. 5b). Das Ergebnis des gesamten Ansatzes führte zur Bestimmung der vollständigen FU-Anordnung innerhalb der HtH1-Untereinheit (Fig. 2a).

Insbesondere ergab die Spaltung der HtH1-Untereinheit (1-abcdefgh) mit V8-Protease vier Präzipitationsgipfel in der gekreuzten IE (Fig. 2e). Das SDS-PAGE-Verfahren zeigte

fünf unterschiedliche Fragmente (Fig. 2f): 220 kDa (5 FU's), 185 kDa (4 FU's), 100 kDa (2 FU's), 55 kDa (1 FU) und 46 kDa (1 FU). Das 100 kDa-Fragment wurde durch das HPLC-Verfahren (Fig. 3b) isoliert und durch N-terminale Sequenzierung als 1-ab identifiziert, da die Sequenz identisch zu derjenigen der intakten Untereinheit war (Tabelle I). In dem "crossed-line" IE-Verfahren verschmolz 1-ab mit drei Präzipitationsgipfeln des Elastase-Spaltmusters. Aufgrund der Auswertung ergab sich, daß sie die Fragmente 1-ab, 1-a bzw. 1-b darstellen (Fig. 2g). Jedoch verblieb es unklar, welcher Gipfel 1-a und welcher 1-b darstellt. In einem zweiten Schritt wurde das HPLC-aufgeklärte 1-ab durch Elastase in seine Komponenten-FU's gespalten, aus denen eine durch das native PAGE-Gel-Streifenverfahren eluiert werden konnte und dem Elastase-Muster durch das "crossed-line" IE-Verfahren (Fig. 2h) zugeordnet und N-terminal sequenziert wurde. Diese Komponente wies die gleiche N-terminale Sequenz wie die gesamte Untereinheit auf und war deshalb identisch zu 1-a. Somit ist die zweite FU des 100 kDa-Fragments 1-b (Fig. 2a; Tabelle I). Ebenso wurden HPLC-aufgeklärte 1-c und 1-h erhalten (Fig. 3b), durch N-terminale-Sequenzähnlichkeiten zu den entsprechenden FU's in KLH1 (Tabelle I) identifiziert und durch das "crossed-line" IE-Verfahren ihren entsprechenden Präzipitationsgipfeln in dem Elastase-Muster zugeordnet (Fig. 2i,j). Weiterhin wurden 1-a, 1-b, 1-c und 1-h identifiziert (Fig. 2a). Unter Verwendung von Papain zur Untereinheiten-Spaltung wurden fünf unterschiedliche Gipfel in dem gekreuzten IE-Verfahren (Fig. k) erhalten. Aus einer solchen Probe wurde ein 100 kDa-Fragment (2 FU's) durch das HPLC-Verfahren (Fig. 3c) aufgereinigt, welches gemäß des "crossed-line" IE-Verfahrens das bereits identifizierte FU 1-h und eine der vier noch nicht identifizierten FU's enthielt und deshalb 1-gh darstellen muß (Figs. 2k, 3c). Tatsächlich wies dieses Fragment eine N-terminale Sequenz auf, die Ähnlichkeiten zu KLH1-g (Tabelle I) zeigte. Zur weiteren Bestätigung wurde das HPLC-aufgeklärte Fragment 1-gh mit Elastase in seine Bestandteil-FU's gespalten, aus denen 1-g aufgereinigt und durch N-terminale Sequenzierung identifiziert wurde. Es wurde durch "crossed-line" IE-Verfahren seinem Gipfel in dem Elastase-Spaltmuster zugeordnet (Fig. 2l).

Das 220 kDa-Fragment aus der V8-Protease-Spaltung (Fig. 2e, f) wurde HPLC-aufgereinigt (Fig. 3b) und fusionierte im "crossed-line" IE-Verfahren mit 1-h, 1-g und drei noch nicht identifizierten Gipfeln des Elastase-Spaltmusters. Weiterhin wurde das 185

kDa-Fragment in ausreichender Reinheit erhalten (Fig. 2e, f; 3b), und es wurde gezeigt, daß sie die gleichen Komponenten mit Ausnahme von 1-h enthielten. Dies legte nahe, daß das 22 kDa und das 185 kDa-Fragment 1-defgh bzw. 1-defg sind. Tatsächlich war die N-terminale Sequenz praktisch identisch und zeigte weiterhin Ähnlichkeit zu KLH1-d (Tabelle I). Die Spaltung der HtH1-Untereinheit mit Trypsin ergab eine Vielzahl an Komponenten in dem Molekulargewichtsbereich von ein bzw. zwei FU's (Fig. 2m). Mehrere der Komponenten wurden in HPLC-Fractionen angereichert (Fig. 3d). Ein 100 kDa-Fragment erwies sich als besonders nützlich, da es die gleich N-terminale Sequenz wie das Fragment 1-defg aus der V8-Protease-Spaltung aufwies (Tabelle I); deshalb sollte das 100 kDa-Fragment 1-de darstellen. In dem "crossed-lined" IE-Verfahren fusionierte diese Komponente mit zwei der drei noch nicht identifizierten FU-Gipfeln des Elastase-Spaltmusters (Fig. 2n), welches deshalb 1-d und 1-e darstellen sollte, und somit eine einzige Möglichkeit für 1-f übrig ließ. Das "crossed-line" IE-Verfahren zeigte auch, daß in der 1-de Fraktion weiterhin FU 1-f vorhanden war (Fig. 2n). Die Identifikation von 1-f bestätigte durch Spaltung der Untereinheit mit Chymotrypsin (Fig. 2o) und nachfolgendem HPLC-Verfahren (Fig. 3e). Diese Spaltung ergab unter anderem ein 95 kDa-Fragment (2 FU's) welches im "crossed-line"-IE-Verfahren mit 1-g und einem zweiten Gipfel (Fig. 2p) fusionierte und deshalb entweder 1-gh (welches ausgeschlossen werden konnte, da 1-h bereits identifiziert war), oder 1-fg (welches sinnvoll erscheint aufgrund des weiteren betreffenden Peaks, der zu dem verbleibenden Kandidaten identisch war) sein könnte. Tatsächlich zeigte dieses Fragment eine neue N-terminale Sequenz, welche in gewisser Weise zu KLH1-f ähnlich ist (Tabelle I). Das letzte Problem bestand nun darin, die zwei verbleibenden FU-Gipfel 1-d bzw. 1-e zuzuordnen. Dies wurde unter Verwendung von HPLC-isolierten FU's aus Proben gelöst, in denen die Untereinheit mit Elastase gespalten worden war. (Fig. 2c, d; 3a). Die saurere Komponente in dem gekreuzten IE-Verfahren war 1-d abgeleitet aus seiner N-terminalen Sequenz, welche identisch ist mit der von 1-defgh (Fig. 2c; Tabelle I), wohingegen die basischere Komponente des 1-d/1-g-Paares eine neue N-terminale Sequenz (Tabelle I) aufwies und deshalb 1-e (Fig. 2a) sein mußte. Somit war die Struktur der funktionellen Einheiten der Untereinheit HtH1 aufgeklärt.

**Beispiel 3:**

Vergleich der Molekulargewichte und N-terminalen Sequenzen der biochemisch isolierten funktionellen Einheiten (FU's) aus HtH1 und KLH1. Die unterschiedlichen FU's, jede mit einer intakten binukleären Kupfer-Bindungsstelle, wurden durch limitierte Proteolyse als globuläre Segmente aus ihrer größeren Einheit freigesetzt; vgl. Abschnitt "Isolierung und Analyse der Einheiten aus HtH1". Die KLH1-Daten wurden aus Söhngen et al., supra, entnommen. Die Zuordnung als tatsächliche Einheit erfolgte aufgrund des Molekulargewichtes und des immunologischen Verhaltens (vgl. Fig. 2). Das ungewöhnlich niedrige Molekulargewicht von isoliertem HtH1-d könnte bedeuten, daß ein großes Peptid C-terminal abgespalten wurde.

TABELLE I

Funktionelle Einheit	Masse (kDa)	N-terminale Sequenz
HtH1-a	53	DNVVRKDVSHLTDDEVQ
KLH1-a	50	ENLVRKDVERL
HtH1-b	48	?
KLH1-b	45	?
HtH1-c	46	FEDEKHSLRIRKNVDSLTPPEENTNERLR
KLH1-c	45	KVPR SRLIRKNVDRLTPSE
HtH1-d	40	VEEVTGASHIRKNLNDLNTGEM
KLH1-d	50	EVTSANRIRKN IENLS
HtH1-e	49	ILDHDHEEEILVRKNIIDLSP
KLH1-e	50	?
HtH1-f	50	KLNSRKHTPNRVRHELSSLSSRDIA SLKA
KLH1-f	45	HHL SXNKVRHDLSTL
HtH1-g	45	DHQSGSIAGSGVRKDVNTLTKAETDNLRE
KLH1-g	45	SSMAGHFVRKDINTLTP
HtH1-h	55	DEHHDDR LADVLRKEVDFLSLQEANAIKD
KLH1-h	60	HEDHHEDILVRKNIHSL

**Beispiel 4:****Klonierung von Hämocyanin-cDNA**

1. Zur Klonierung der cDNA von Hämocyanin wurde mRNA aus dem Mantelgewebe des jeweiligen Mollusken isoliert. Der erste cDNA-Strang wurde durch reverse Transkription mit Oligo(dT) als Primer erhalten. Der zweite Strang wurde durch konventionelle Synthese mit random Primern erhalten. Die so erhaltene cDNA wurde in einen Lambda-Expressionsvektor kloniert unter Bildung einer cDNA-Expressionsbibliothek. Unter Verwendung eines anti-Hämocyanin-Antikörpers wurde die Bibliothek unter geeigneten Bedingungen abgesucht, wobei positive Klone erhalten wurden. Diese positiven Klone wurden isoliert, sequenziert und charakterisiert.
2. Aus dem N-terminalen Bereich eines erhaltenen positiven Klons wurde eine cDNA-Sonde hergestellt, mit der die cDNA-Bibliothek abgesucht wurde. Die erhaltenen positiven Klone werden wiederum isoliert, sequenziert und charakterisiert.
3. Um noch weiter 5' gelegene Sequenzen zu erhalten, wurde eine weitere Expressionsbibliothek aus cDNA hergestellt, die mit Hilfe einer Kombination von Hämocyanin-spezifischen und „random“-Primern erhalten wurde. Diese cDNA-Bibliothek wurde mit cDNA-Sonden, die den „N-terminalen“ Bereichen der unter (2.) erhaltenen positiven Klone entsprechen, abgesucht. Die erhaltenen positiven Klone wurden isoliert, sequenziert und charakterisiert.

**Beispiel 5:****Klonierung von Hämocyanin-Genen**

Genomische DNA wurde gemäß Standardverfahren isoliert. Die PCR-Reaktion wurde mit Hilfe von Hämocyanin-spezifischen Primern durchgeführt, um die Genabschnitte der interessierenden Hämocyanine zu amplifizieren. Die erhaltenen Amplifikationsprodukte wurden in einen geeigneten Vektor (beispielsweise pGem T oder pGem T easy (Promega, Mannheim) kloniert, sequenziert und charakterisiert.



**Beispiel 6:****Rekombinante Expression von Hämocyanin**

Mit einem cDNA-Klon, der die kodierende Sequenz für HtH-1d enthält, wurde eine PCR-Reaktion durchgeführt, um spezifisch die kodierende Sequenz der Domäne 1d zu amplifizieren. Als Primer wurden synthetisch hergestellte Oligonukleotide verwendet.

Primer 1 (stromaufwärts) umfaßt sechs Nukleotide des Endes der Domäne HtH-1c, eine *SacI*-Schnittstelle und 12 Nukleotide des Endes der Domäne HtH-1d.

Primer 2 (stromabwärts) umfaßt sechs Nukleotide des Anfangs der Domäne HtH1-e, eine *SalI*-Schnittstelle und eine HtH1-d spezifische Sequenz.

PCR-Bedingungen:	2	min	95°C
	30	sec	95°C
	30	sec	55°C
	1	min	72°C
	35	Zyklen	
	10	min	72°C

Das Amplifikat wurde in dem pGEM T easy PCR Klonierungsvektor (Promega) in XL-1 Blue (Stratagene) kloniert. Nach Isolation des rekombinanten Plasmids und Restriktion mit *SacI* und *SalI* konnte die cDNA der Domäne 1d isoliert werden. Der Expressionsvektor pQE30 (Qiagen) wurde ebenfalls mit den entsprechenden Enzymen restringiert.

Anschließend wurde die Ligation zwischen der HtH-1d-cDNA (restringiert mit *SacI* und *SalI*) und pQE (restringiert mit *SacI* und *SalI*) durchgeführt. Somit ist eine gerichtete Klonierung der cDNA, kodierend für HtH-1d, in einen Expressionsvektor möglich. Die Expression von HtH1-d in pQE in XL-1 Blue erfolgt gemäß Herstelleranleitung. Die Expression weiterer HtH1-, HtH2- oder KLH1- oder KLH2-Domänen kann analog erfolgen.

## SEQUENZPROTOKOLL

&lt;110&gt; Biosyn Arzneimittel GmbH

<120> Nukleinsäuremolekül, kodierend für eine  
Hämocyanin-kodierende Nukleinsäuresequenz

&lt;130&gt; P30370-01996

&lt;140&gt;

&lt;141&gt;

&lt;160&gt; 38

&lt;170&gt; PatentIn Vers. 2.0

&lt;210&gt; 1

&lt;211&gt; 1228

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Haliotis tuberculata

&lt;400&gt; 1

agatcatttg	actcgtgaag	aggaatacga	gctaaggatg	gctctggaga	gattccaggc	60
cgacacatcc	gttgatgggt	accaggctac	agtagagtac	catggccttc	ctgctcgttg	120
tccacgacca	gatgcaaaag	tcagggttcg	ctgttgatg	catggcatgg	catccttccc	180
tcactggcac	cggctgttcg	ttaccacagg	ggaagatgct	cttgtagcgc	gtggatcgcc	240
tatcgggtgt	ccttattggg	actggacaaa	acctatgact	caccttccag	acttggcatc	300
aaatgagacg	tacgtagacc	cgtatggaca	tacacatcat	aatccattct	tcaatgcaaa	360
tatatctttt	gaggagggac	accatcacac	gagcaggatg	atagattcga	aactgtttgc	420
cccagtagct	tttggggagc	attcccattc	gtttgatgga	atcctgtacg	catttgagca	480
ggaagatttc	tgcgactttg	agattcagtt	tgagttagtc	cataattcta	ttcatgcgtg	540
gataggcggt	tccgaagatt	actccatggc	caccctgcat	tacacagcct	ttgaccccat	600
tttctacctt	catcattcca	atgtcgatcg	tctatgggca	atctggcaag	ctcttcaaat	660
caggagacac	aagccatata	aagcccactg	tgacacagtct	gtggaacagt	tgccaatgaa	720
gccatttgct	ttcccattac	ctcttaacaa	caacgagaag	acacatagtc	attcagtcct	780
gactgacatt	tatgactacg	aggaagtgtc	gcactacagc	tacgatgatc	taacgtttgg	840
tgggatgaac	cttgaagaaa	ttgaagaagc	tatacatctc	agacaacagc	atgaacgagt	900
cttcgcggga	tttctccttg	ctggaatagg	aacatctgca	cttggttgaca	ttttcataaa	960
taaaccgggg	acccaaccac	tcaaagctgg	agatattgcc	attcttggtg	gtgccaagga	1020
aatgccttgg	gcgtttgacc	gcttgtataa	ggtcgaaata	actgactcat	taaagacact	1080
ttcccttgat	gtcgatggag	attatgaagt	cactttttaa	attcatgata	tgcacggaaa	1140
cgctcttgat	acggacctga	ttccacacgc	agcagttgtt	tctgagccag	ctcacccctac	1200
ctttgaggat	gaaaagcaca	gcttacga				1228

&lt;210&gt; 2

&lt;211&gt; 1210

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Haliotis tuberculata

&lt;400&gt; 2

atcagaaaaa	atgtcgacag	cttgactcct	gaagaaacaa	atgaactgcg	taaagccctg	60
gagctttctt	aaaatgatca	tactgtaggt	ggattcaatc	agcttggcgc	cttccatgga	120
gagcctaaat	ggtgccctaa	tcctgaagcg	gagcacaagg	ttgcctgctg	cgttcatggc	180
atggccggtt	ttccacattg	gcacaggctt	cttgctctcc	aggcggagaa	tgctcttaga	240
aagcatgggt	acagtgggtc	tctaccatac	tgggattgga	ctcgccccct	ttcccaactt	300
cctgatctgg	ttagtcatga	gcagtataca	gatccttccg	accatcacgt	gaagcataac	360
ccgtgggttc	atggccacat	cgatacagta	aatcaggata	ccaccagaag	cgtaggggag	420
gatctttatc	aacaacctga	atttgacat	ttcacggata	ttgctcaaca	agtcctctta	480
gcattagaac	aagatgactt	ctgttcggtt	gaagtgcagt	atgagatttc	ccataatttt	540

atccatgcac ttgtaggagg aaccgacgct tatggcatgg catcgctgag atatacagca 600  
 tacgatccaa tctttttctt gcatcattca aacaccgaca ggatctgggc tatttggcaa 660  
 tccctgcaaa aatacagagg caaaccgtac aacactgccca actgcgccat agaactctatg 720  
 agaaggcccc tgcaaccatt tggactaagc agtgccatta accctgacag aatcaccaga 780  
 gagcatgcta tcccgtttga tgtcttcaac tatagagata accttcatta cgtatatgat 840  
 accctggaat ttaatggttt gtcgatttca caacttgata gagagctgga aaaaatcaag 900  
 agtcacgaaa gagtatttgc tggattcttg ctgtcgggga ttaaaaaatc tgctcttggt 960  
 aaattcgaag tttgtactcc acctgataat tgtcataaag cagggggagtt ttatctactc 1020  
 ggggacgaaa acgagatggc ttgggcctat gaccgacttt tcaagtatga tattactcag 1080  
 gttctggaag caaaccatct acacttctat gatcatctct tcattcgcta cgaagtcttt 1140  
 gatcttaaag gagtgagttt gggaaactgac ctgttccaca ctgcaaagtgt ggtacatgat 1200  
 tccggcacag 1210

<210> 3

<211> 1239

<212> DNA

<213> *Haliotis tuberculata*

<400> 3

gcacccgtga tegtataaac taogttgaag aagttactgg ggccagtcac atcaggaaga 60  
 atttgaacga cctcaatacc ggagaaatgg aaagccttag agctgctttc ctgcatattc 120  
 aggacgacgg aacatatgaa tctattgccc agtaccatgg caaaccaggc aaatgtcaat 180  
 tgaatgatca taatattgcy tgttgtgtcc atgggatgac taccttcccc cagtggcaca 240  
 gactgtatgt ggttcagggtg gagaatgctc tccataaacag gggatctggt gtggctgttc 300  
 cttactggga gtggactgct cccatagacc atctacctca tttcattgat gatgcaacat 360  
 acttcaattc ccgacaacag cggtagcacc ctaacccttt cttcagggga aaggttactt 420  
 ttgaaaacgc agtcacaaca agggacccac aagccgggct cttcaactca gattatatgt 480  
 atgagaatgt tttacttgca ctggagcagg aaaattattg tgactttgaa attcagtttg 540  
 agcttggtca taacgcactt cattccatgc tgggaggtaa agggcagtac tccatgtcct 600  
 cccctggacta ttctgcgttt gatcccgtct tcttctaca tcatgccaac acggacagac 660  
 tgtgggcaat ctggcaggaa ctacaaagat tccgagaact gccttatgaa gaagcgaact 720  
 gtgcaatcaa cctcatgcat caaccactga agccgttcag tgatccacat gagaatcacg 780  
 acaatgtcac tttgaaatac tcaaaaccac aggaaggatt cgactaccag aaccacttcg 840  
 gatacaagta tgacaacctt gagttccatc acttatccat cccaagtctt gatgctaccc 900  
 tgaagcaaag gagacatcac gacagagtgt ttgcgggctt ccttcttcat aacataggaa 960  
 cttctgctga cataactatc tacatatgtc tgccctgacgg acggcgtggc aatgactgca 1020  
 gtcattgaggc ggggaacattc tatatcctcg gaggcgaaac agagatgcct tttatctttg 1080  
 accgtttgta taaatttgaa atcaccaaac cactgcaaca gttaggagtc aagctgcatg 1140  
 gtggagtttt cgaactggag cttgagatca aggcatacaa cggttcctat ctggatcccc 1200  
 atacccttga tccaactatc atctttgaac ctggaacag 1239

<210> 4

<211> 1260

<212> DNA

<213> *Haliotis tuberculata*

<400> 4

atacccatat cttggaccac gaccatgagg aagagatact tgtcaggaag aatataattg 60  
 atttgagccc aaggagaggg gtttctctag tcaaagcttt gcaaagaatg aagaatgatc 120  
 gctccgctga tgggtaccaa gccattgcct ctttccatgc cctgccacca ctctgtccca 180  
 atccatctgc agtccaccgt tatgcttgct gtgtccatgg catggctaca tttccccagt 240  
 ggcacagact gtacactggt caggttcagg atgccctgag gagacatggt tcaactgttg 300  
 gtattcctta ctgggactgg acaaaaccag tcaacgagtt acccgagctt ctttcttcag 360  
 caacatttta tcatccaatc cggaatatta atatttcaaa tccattcctc ggggctgaca 420  
 tagaatttga aggaccgggc gttcatacag agaggcacat aaatactgag cgcctgtttc 480  
 acagtgggga tcatgacgga taccacaact ggttcttcga aactgttctc tttgcttttg 540  
 aacaggaaga ttactgcat tttgaaatac aatttgagat agcccataat ggcattccca 600  
 catggattgg tgggaagcgca gtacatggca tgggacacct tcaactatgca tcatatgatc 660  
 caattttcta catccaccat tcacagacgg acagaatatg ggctatttgg caagagctgc 720

agaagtacag	gggtctatct	gggtcggag	caaactgtgc	cattgaacat	atgagaacac	780
ccttgaagcc	ttttagcttt	gggccaccct	acaatttgaa	tagtcatacg	caagaatatt	840
caaagcctga	ggacacgttt	gactataaga	agtttggata	cagatatgat	agtctggaat	900
tggaggggag	atcaatttct	cgcattgatg	aacttatcca	gcagagacag	gagaaagaca	960
gaacttttgc	aggggttcctc	cttaaagggt	ttggtacatc	cgcattctgtg	tcattgcaag	1020
tttgacagag	tgatcacacc	tgtaaagatg	cgggctatct	cactattctg	ggaggatcag	1080
cggaaatgcc	atgggcgttc	gacaggcttt	ataagtatga	cattactaaa	actcttcacg	1140
acatgaacct	gaggcacgag	gacaccttct	ctatagatgt	aactatcacg	tcctacaatg	1200
gaacagtact	ctcgggagac	ctcatccaga	cgcctcccat	tatatttgta	cctggacgcc	1260

<210> 5  
 <211> 1251  
 <212> DNA  
 <213> *Haliotis tuberculata*

<400> 5	
ataaactcaa	ctcacggaaa
gttcccgtga	catagcaagc
ctgatggtta	tcaagctatt
ctggacgtga	gatcgctgt
tgtacactct	gcagttggag
actgggactg	gaccaagcca
atgacgtttg	gcaaaatgcc
aagatgcatt	tacgggtgaga
agcactcgct	tctgtttgac
tcgaagttca	gtttgaagtg
cgtacgcctt	ctcctctctc
cgtttgttga	caaaatattg
ttagaacagc	tgatttgtgt
atttcaacca	caactcgttc
aagatcttgg	ctataactat
aggcgttaat	agcaaaacgc
gattaggaac	ttcggctgat
atgctgggtg	gattttcatc
tctacaagta	tgacattaca
tccatgctga	tgaaccattt
ttccatcgct	tcactcttcac
catacaccta	acagagtccg
ttgaaggcag	ctttgacaag
gctgccttcc	atggcgttcc
tgcattccacg	gcattggcgac
gcagacacgg	gtccagtgtt
tctgacagac	tgccacacat
atccgtttgc	aagaggttat
tggtctttga	acaaactgac
cgatccatta	tctcgttagga
catacgatcc	aatcttcttt
aagaactgca	aagcaggaga
tgggtcaggc	aatgaggcct
acgcagtcct	taatacagta
aaatcagtg	tttaaactta
ctagagtctt	tgctgggttc
aaatttgcaa	gacatcgga
ctgcagagat	gcattgggca
aggaatttga	catcaaccct
tgtcggttgt	tgctgtgaat
taatctatga	accaggcgaa
	g
	60
	120
	180
	240
	300
	360
	420
	480
	540
	600
	660
	720
	780
	840
	900
	960
	1020
	1080
	1140
	1200
	1251

<210> 6  
 <211> 1209  
 <212> DNA  
 <213> *Haliotis tuberculata*

<400> 6	
atcaccatga	cgaccatcag
acaccttgac	taaggctgag
accacgggtcc	caatggcttt
ccatgcctga	tggccacaac
ggcatcgctt	ctacaccaag
gcctgcctta	ctgggactgg
cggacaacaa	cccccttcaa
ctccccgaga	catgctgttc
aagtctctct	agctctggaa
cccacaatgc	catccattcc
acttactctg	ctacgatcct
ctgtctggca	agctttgcaa
tccaggcaat	gaaaacgccc
caaaggctaa	cgcgaagcca
acaacctcat	cttccatgga
tagcaggatc	cgggggtccgc
tgagggaggc	gctgtggggg
ctgctttcca	tggaaaacca
gtactcacgg	catggctacc
atgcaatgag	ggcgcatggg
tcacccacct	gccaacactg
ttgattatct	caatgtcagc
agcatggatc	agagtctgtt
tctgcaaatt	cgaagttcag
ctacggaatg	tcactctctg
caacaccgac	agaatctggg
caaccatgcc	aattgtgaga
tatcaaccac	aaccagtcga
tcgagtgata	tcggttgagc
tcgcgtgctt	gaagaaagaa
	60
	120
	180
	240
	300
	360
	420
	480
	540
	600
	660
	720
	780
	840
	900

```
aggaggagga cagaatattt gctgccttcc ttctcagtggt aatcaagcgt agtgctgatg 960
tagtggttoga catatgccag ccaggacacg aatgtgtgtt cgcagggact tttgcgattt 1020
tgaggagggga gctagaaatg ccctgggtcct ttgacagact gttccgctat gacatcacca 1080
aggtgatgaa gcagctacac ctgagggcatg actcggactt tacgttcagg gtgaagattg 1140
tcggcactga cgaccacgag cttccttccg acagtgtcaa agcaccaact attgaatttg 1200
aacctggcg 1209
```

<210> 7  
 <211> 1535  
 <212> DNA  
 <213> *Haliotis tuberculata*

```
<400> 7
tgcacagagg cggaagcac gaagatgaac accatgatga cagactcgca gatgtcctga 60
taaggaaaga agttgacttc ctctccctgc aagaggccaa cgcaattaag gatgcaactgt 120
acaagctcca gaatgacgac agtaaaggcg gctttgaggc catagctggc tatcacgggt 180
atcctaatat gtgtccagaa agaggtaccg acaagtatcc ctgctgcgtc cacggaatgc 240
ccgtgttccc ccaactggcat cgctgcaca ccattcagat ggagagagct ctgaaaaacc 300
atggctctcc aatgggtatt ccttactggg attggacaaa gaagatgtcg agtcttccat 360
ctttcttttg agattccagc aacaacaacc cttctacaa atattacatc cggggcgtgc 420
agcacgaaac aaccagggac gttaatcaga gactctttaa tcaaaccaag tttggtgaat 480
ttgattacct atattacctt actctgcaag tcctggagga aaactcatac tgtgactttg 540
aagttcagta tgagatcctc cataacgcgc tccactcctg gcttggagga actggacagt 600
attccatgtc taccctggag tattcagcct tcgaccctgt cttcatgatt caccactcga 660
gtttggatag aatctggatc ctttggcaga agttgcaaaa gataagaatg aagccttact 720
acgcattgga ttgtgctggc gacagactta tgaaagaccc cctgcatccc ttcaactacg 780
aaaccgttaa tgaagatgaa ttcacccgca tcaactcttt cccaagcata ctgtttgacc 840
actacagggt caactatgaa tacgataaca tgagaatcag gggtcaggac atacatgaac 900
ttgaagaggt aattcaggaa ttaagaaaca aagatcgcat atttgctggg tttgttttgt 960
cgggcttacg gatatcagct acagtgaag tattcattca ttcgaaaaac gatacaagtc 1020
acgaagaata tgcaggagaa tttgcagttt tgggaggtga gaaggagatg ccgtgggcat 1080
atgaaagaat gctgaaattg gacatctccg atgctgtaca caagcttcac gtgaaagatg 1140
aagacatccg ttttagagtg gttgttactg cctacaacgg tgacgttgtt accaccaggc 1200
tgtctcagcc attcatcgtc caccgtccag cccatgtggc tcacgacatc ttggtaatcc 1260
cagtaggtgc gggccatgac cttccgccta aagtcgtagt aaagagcggc accaaagtgc 1320
agtttacacc aatagattcg tcggtgaaca aagcaatggg ggagctgggc agctatactg 1380
ctatggctaa atgcatcgtt ccccttttct cttaccacgg ctttgaactg gacaaagtct 1440
acagcgtcga tcacggagac tactacattg ctgcaggtac ccacgcgttg tgtgagcaga 1500
acctcaggct ccacatccac gtggaacacg agtag 1535
```

<210> 8  
 <211> 317  
 <212> DNA  
 <213> *Haliotis tuberculata*

```
<400> 8
gtttctttct gtcacatatt ggtacatcag cgaatgttga aatcattata gaccatggga 60
ctcttcatac ctccgtgggc acgtttgctg ttcttggcgg agagaaggag atgaaatggg 120
gatttgaccg tttgtacaaa tatgagatta cagatgaact gaggcaactt aatctccgtg 180
ctgatgatgt tttcagcatc tctgttaaag taactgatgt tgatggcagt gagctgtcct 240
ctgaactcat cccatctgct gctatcatct tcgaacgaag ccatattgac catcaggacc 300
cgcacatgga cacaatc 317
```

<210> 9  
 <211> 1219  
 <212> DNA  
 <213> *Haliotis tuberculata*

<400> 9

```

attaggaaaa atgttgataa tcttacaccc gaggaataa atttcttgag gggggcaatg 60
gcagaccttc aatcagacaa aaccgccggt ggattccagc aaattgctgc ttttcacggg 120
gaacccaaat ggtgcccaag tcccgatgct gagaagaagt tctctgctg tgcccatgga 180
atggctgtct tccctcactg gcacagactc ctgaccgtgc aaggcgagaa tgccctgaga 240
aagcatggat gtctcggagc tctcccctac tgggactgga ctcgccctt gtctcaccta 300
cctgatttgg ttttggttaag tagcagaact acaccgatgc catattccac cgtggaagcc 360
cgaaacccct ggtacagcgg ccatattgat acagttggtg ttgacacaac aagaagcgtc 420
cgtcaagaac tgtatgaagc tcctggattt ggccattata ctggggctcg taagcaagtg 480
cttctggctt tggagcagga tgacttctgt gattttgaag tccagtttga gatagctcac 540
aatttcattc acgctcttgt cggcggaagc gagccatatg gtatggcgct actccgttac 600
actacttatg atccaatttt ctacctccat cattctaaca ctgacagact ctgggctata 660
tggcaggctc tacaaaagta caggggcaaa ccttacaatt ccgccaactg cgccattgct 720
tctatgagaa aacccttaca acccttgggt ctgactgatg agatcaaccc ggatgatgag 780
acaagacagc atgctgttcc tttcagtgtc tttgattaca agaacaactt caattatgaa 840
tatgacaccc ttgacttcaa cggactatca atctcccagc tggaccgtga actgtcacgg 900
agaaagtctc atgacagagt atttgccgga tttttgctgc atgggtattca gcagtctgca 960
ctagttaaat tctttgtctg caaatcagat gatgactgtg accactatgc tgggtgaattc 1020
tacatccttg gtgatgaagc tgaaatgcca tggggctatg atcgtcttta caaatatgag 1080
atcactgagc agctcaatgc cctggatcta cacatcggag atagattctt catcagatac 1140
gaagcgtttg atcttcatgg tacaagtctt ggaagcaaca tcttcccaa accttctgtc 1200
atacatgacg aaggggcag 1219

```

<210> 10  
<211> 1244  
<212> DNA  
<213> *Haliotis tuberculata*

```

<400> 10
gtccaccatca ggctgacgag tacgacgaag ttgtaactgc tgcaagccac atcagaaaga 60
attttaaaga tctgtcaaag ggagaagtag agagcctaag gtctgccttc ctgcaacttc 120
agaacgacgg agtctatgag aatattgcc aagtccacgg caagcctggg ttgtgtgatg 180
ataacggctg caaggttgcc tgttgtgtcc atggaatgcc caccttcccc cagtggcaca 240
ggctctatgt cctccagggtg gagaatgctt tgctggagag aggatctgcc gtctctgtgc 300
catactggga ctggactgaa acatttacag agctgccatc tttgattgct gaggctacct 360
atttcaattc ccgtcaacaa acgtttgacc ctaatccttt cttcagaggt aaaatcagtt 420
ttgagaatgc tgttacaaca cgtgatcccc agcctgagct gtacgttaac aggtactact 480
acaaaaacgt catgttggtt tttgaacagg acaactactg cgacttcgag atacagtttg 540
agatggttca caatgttctc catgcttggc ttggtggaag agctacttat tctatttctt 600
ctcttgatta ttctgcattc gacctgtgt ttttcttca ccatgcgaac acagatagat 660
gtggggccat ctggcaggag ctgcagaggt acaggaagaa gccatacaat gaagcggatt 720
gtgccattaa cctaattgct aaacctctac atcccttca caacagtgat ctcaatcatg 780
atcctgtaac cttaaatac tcaaaaccca ctgatggctt tgactaccag aacaacttgg 840
gatacaagta tgacaacctt gagttcaatc atttcagat tcccaggctt gaagaaatca 900
ttcgtattag acaacgtcaa gatcgtgtgt ttgcaggatt cctccttcac aacattggga 960
catccgcaac tgttgagata ttcgtctgtg tccctaccac cagcgggtgag caaaactgtg 1020
aaaacaaagc cggaacattt gccgtactcg gaggagaaac agagatggcg tttcattttg 1080
acagactcta caggtttgac atcagtgaac cactgaggga cctcggcata cagctggaca 1140
gccatgactt tgacctcagc atcaagattc aaggagtaaa tggatcctac cttgatccac 1200
acatcctgcc agagccatcc ttgatttttg tgctgggttc aagt 1244

```

<210> 11  
<211> 1284  
<212> DNA  
<213> *Haliotis tuberculata*

```

<400> 11
tctttcctgc gtctgatgg gcattcagat gacatccttg tgagaaaaga agtgaacagc 60
ctgacaacca gggagactgc atctctgatc catgctctga aaagtatgca ggaagaccat 120
tcacctgacg ggttccaagc cattgcctct ttccatgctc tgccaccact ctgcccttca 180

```

ccatctgcag	ctcacggtta	tgcttgctgt	gtccacggca	tggctacatt	tccccagtg	240
cacagattgt	acactgtaca	gttccaggat	gcactgagga	gacatggagc	tacggtaggt	300
gtaccgtatt	gggattggct	gcgaccgcag	tctcacctac	cagagcttgt	caccatggag	360
acataccatg	atatttggag	taacagagat	ttccccaatc	ctttctacca	agccaatatt	420
gagtttgaag	gagaaaacat	tacaacagag	agagaagtca	ttgcagacaa	actttttgtc	480
aaaggtggac	acgtttttga	taaactgggt	cttcaaacaa	gccatcctag	cgctgagcag	540
gaaaactact	gtgactttga	gattcagttt	gaaattcttc	acaacggcgt	tcacacgtgg	600
gtcggaggca	gtcgtacct	ctctatcgga	catcttcatt	acgcattcta	cgacctctct	660
ttctaccttc	accatttcca	gacagaccgt	atttgggcaa	tctggcaaga	actccaggaa	720
cagagagggc	tctcgggtga	tgaggctcac	tgtgctctcg	agcaaatgag	agaaccattg	780
aagcctttca	gcttcggcgc	tccttataac	tggaaatcagc	tcacacagga	tttctccga	840
cccagggaca	ccttcgacta	caggaagttt	ggttatgaat	atgacaattt	agaattcctg	900
ggaatgtcag	ttgtcgaact	ggatcaatac	attattgaac	atcaagaaaa	tgatagagta	960
ttcgtgggt	tcctgttgag	tggattcgga	ggttccgcac	cagttaattt	ccaggtttgt	1020
agagctgatt	ccacatgtca	ggatgctggg	tacttcaccg	ttcttggtgg	cagtgtctgag	1080
atggcgtggg	catttgacag	gctttacaaa	tatgacatta	ctgaaactct	ggagaaaaatg	1140
caccttcgat	atgatgatga	cttcacaatc	tctgtcagtc	tgaccgcaa	caacggaact	1200
gtcctgagca	gcagtcta	cccaacaccg	agtgtcatat	tccagcgggg	acatcgtgac	1260
ataaatacca	ggagcatgtc	accg				1284

&lt;210&gt; 12

&lt;211&gt; 1221

&lt;212&gt; DNA

<213> *Haliotis tuberculata*

&lt;400&gt; 12

aaccgtgttc	gccgtgagct	gagcgatctg	tctgcgaggg	acctgtctag	tctcaagtct	60
gctctgcgag	acctacagga	ggatgatggc	cccaacggat	accaggctct	tgcagccttc	120
catgggctac	cagcaggctg	ccatgatagc	cggggaaatg	agatcgcag	ttgcattcac	180
gggatgccga	ccttcccca	gtggcacaga	ctgtacacc	tgcagttgga	gatggctctg	240
aggagacatg	gatcatctgt	cgccatccc	tactgggact	ggacaaagcc	tatctccgaa	300
ctccctcgc	tcttcaccag	ccctgagtat	tatgaccat	ggcatgatgc	tgtggtaa	360
aaccattct	ccaaagggtt	tgtcaaattt	gcaaatacct	acacagtaag	agacccacag	420
gagatgctgt	tccagctttg	tgaacatgga	gagtcaatcc	tctatgagca	aactcttctt	480
gctcttgagc	aaaccgacta	ctgtgatatt	gaggtagagt	ttgaggctct	ccataacgtg	540
atccactacc	ttgttggtgg	acgtcagacc	tacgcattgt	cttctctgca	ttatgcctcc	600
tacgacccat	tcttctttat	acaccattcc	tttgtggata	agatgtgggt	agtatggcaa	660
gctcttcaaa	agaggaggaa	acttccatac	aagcgagctg	actgtgctgt	caacctaatg	720
actaaaccaa	tgaggccatt	tgactccgat	atgaatcaga	acccattcac	aaagatgcac	780
cagttccca	acacactcta	tgactacgag	acactgtact	acagctacga	taactccgaa	840
ataggtggca	ggaatctcga	ccagcttcga	gctgaaattg	acagaagcag	aagccacgat	900
cgcgtttttg	ctggattctt	gcttcgttga	atcggaaact	ctgctgatgt	caggttttgg	960
atctgtagaa	atgaaaatga	ctgccacagg	ggtggaataa	ttttcatctt	aggtggagcc	1020
aaggaaatgc	catggtcatt	tgacagaaac	ttcaagtttg	atatcacc	tgtactcgag	1080
aatgctggca	ttagcccaga	ggacgtgttt	gatgctgagg	agccatttta	tatcaagggt	1140
gagatccatg	ctgttaacaa	gaccatgata	ccgtcgtctg	tgatcccagc	cccaactatc	1200
atctattctc	ctggggaagg	t				1221

&lt;210&gt; 13

&lt;211&gt; 1205

&lt;212&gt; DNA

<213> *Haliotis tuberculata*

&lt;400&gt; 13

cgcgtgctg	acagtgcaca	ctcggccaac	attgctggct	ctggggtgag	gaaggacgtc	60
acgaccctta	ctgtgtctga	gaccgagaac	ctaagacagg	ctcttcaagg	tgtcatcgat	120
gataccggtc	ccaatgggtta	ccaagcaata	gcaccttcc	acggaagtcc	tccaatgtgc	180
gagatgaacg	gccgcaagg	tgctgttgt	gctcacggta	tggcctcctt	cccacactgg	240
cacagactgt	atgtgaagca	gatggaagat	gccctggctg	accacgggtc	acatatcggc	300

```

atcccttact gggactggac aactgccttc acagagttac ccgcccttgt cacagactcc 360
gagaacaatc ccttccatga gggtcgcatt gatcatctcg gtgtaaccac gtcacgttcc 420
cccagagaca tgctgtttaa cgacccagag caaggatcag agtcgttctt ctatagacaa 480
gtcctcctgg ctttggagca gactgactac tgccagttcg aagtccagtt tgagctgacc 540
cacaacgcca ttcactcctg gacaggtgga cgtagccctt acggaatgtc gaccctcgag 600
ttcacagcct acgatcctct cttctggctt caccactcca acaccgacag aatctgggct 660
gtctggcaag cactgcagaa ataccgagga ctcccatata acgaagcaca ctgtgaaatc 720
caggttctga aacagccctt gaggccattc aacgatgaca tcaaccacaa tccaatcacc 780
aagactaatg ccaggcctat cgattcattt gattatgaga ggtttaacta tcagtatgac 840
acccttagct tccatggtaa gagcatccct gaactgaatg acctgctcga ggaaagaaaa 900
agagaagaga gaacatttgc tgccctcctt cttcgtggaa tcggttgcag tgctgatgtc 960
gtctttgaca tctgccggcc caatgggtgac tgtgtctttg caggaacctt tgctgtgctg 1020
ggagggggagc tagaaatgcc ttggtccttc gacagactgt tccgctatga catcaccaga 1080
gtcatgaatc agctccatct ccagtatgat tcagatttca gtttcagggt gaagcttgtt 1140
gccaccaatg gcactgagct ttcatcagac cttctcaagt caccaacaat tgaacatgaa 1200
cttgg                                     1205

```

```

<210> 14
<211> 1546
<212> DNA
<213> Haliotis tuberculata

```

```

<400> 14
agcccacaga ggaccagttg aagaaacaga agtcactcgc caacatactg acggcaatgc 60
acactttcat cgtaaggaag ttgattcgtt gtccctggat gaagcaaaca acttgaagaa 120
tgccctttac aagctacaga acgaccacag tctaacggga tacgaagcaa tctctggtta 180
ccatggatac cccaatctgt gtccggaaga aggcgatgac aaaatacccc tgctgcgtcc 240
ccggatgggc atctttcctt actggcacag actcttgacc attcaactgg aaagagctct 300
tgagcacaat ggtgcactgc ttggtgttcc ttactgggac tggaacaagg acctgtcgtc 360
actgccggcg ttcttctcgg actccagcaa caacaatccc tacttcaagt accacatcgc 420
cgggtgttggc cagcagaccg tcagagagcc aactagtctt atatataacc agccccaat 480
ccatggttat gattatctct attacctagc attgaccacg cttgaagaaa agaattactg 540
ggactttgag gttcagtatg agatcctcca caacgcctgc cactcctggc ttggaggatc 600
ccagaagtat tccatgtcta ccctggagta ttccggcctt gaccctgtct ttatgatcct 660
tcaactcggg ctagacagac tttggatcat ctggcaagaa cttcagaaga tcaggagaaa 720
gccctacaac ttcgctaaat gtgcttatca tatgatggaa gagccactgg cgcccttcag 780
ctatccatct atcaaccagg acgagttcac ccgtgccaac tccaagcctt ctacagtttt 840
tgacagccat aagttcggct accattacga taacctgaat gttagaggtc acagcatcca 900
agaactcaac acaatcatca atgacttgag aaacacagac agaatctacg caggatttgt 960
ttgtcaggc atcggtacgt ctgctagtgt caagatctat ctccgaacag atgacaatga 1020
cgaagaagtt ggaactttca ctgtcctggg aggagagagg gaaatgccat gggcctacga 1080
gcgagttttc aagtatgaca tcacagaggt tgcagataga cttaaaatta agttatgggg 1140
acacccttta acttccggaa ctggagatca catccttacg aatggaatcg gtggtaaaca 1200
agagcctacc caaatccttt catcatctac agacctgcca atcatgacta cgatgttctt 1260
gttatcccag tanggaagaa accttcacat ccctcccaa gttgtcgtca agaaaggcac 1320
ccgcatcgag ttccaccag tcgatgattc agttacgaga ccagttgttg atcttggaag 1380
ctacactgca ctcttcaact gtgtggtacc accgttcaca taccacggat tcgaactgaa 1440
ccacgtctat tctgtcaagc ctggtgacta ctatgttact ggaccacga gagaccttg 1500
ccagaatgca gatgtcagga ttcatatcca tgttgaggat gagtaa 1546

```

```

<210> 15
<211> 633
<212> DNA
<213> Megathura crenulata

```

```

<400> 15
tggcacgtct tcgctacact gcttttgatc cactattcta cttgcatcac tctaatacag 60
atcgatatat ggcaatatgg caggctttac agaagtacag aggaaaaccg tacaacgttg 120
ctaactgtgc tgttacatcg atgagagaac ctttgcaacc atttggcctc tctgccaaata 180

```



tcaacacaga ccatgtaacc aaggagcatt cagtgccatt caacgttttt gattacaaga 240  
 ccaatttcaa ttatgaatat gacacttttg aatttaacgg tctctcaatc tctcagttga 300  
 ataaaaagct cgaagcgata aagagccaag acagggttctt tgcaggcttc ctgttatctg 360  
 gtttcaagaa atcatctctt gttaaattca atatttgcac cgatagcagc aactgtcacc 420  
 ccgctggaga gttttacctt ctgggtgatg aaaacgagat gccatgggca tacgatagag 480  
 tcttcaaata tgacataacc gaaaaactcc acgatctaaa gctgcatgca gaagaccact 540  
 totacattga ctatgaagta tttgacctta aaccagcaag cctgggaaaa gatttgttca 600  
 agcagccttc agtcattcat gaaccaagaa tag 633

<210> 16

<211> 1236

<212> DNA

<213> Megathura crenulata

<400> 16

gtcaccatga aggcgaagta tatcaagctg aagtaacttc tgccaaccgt attcgaaaaa 60  
 acattgaaaa tctgagcctt ggtgaactcg aaagtctgag agctgccttc ctggaaattg 120  
 aaaacgatgg aacttacgaa tcaatagcta aattccatgg tagccctggg ttgtgccagt 180  
 taaatggtaa ccccatctct tgttggtgccc atggcatgcc aactttccct cactggcaca 240  
 gactgtacgt ggttgctcgtt gagaatgccc tctgaaaaaa aggatcatct gtagctgttc 300  
 cctattggga ctggacaaaa cgaatcgaac atttacctca cctgatttca gacgccactt 360  
 actacaattc caggcaacat cactatgaga caaaccatt ccatcatggc aaaatcacac 420  
 acgagaatga aatcactact agggatccca aggacagcct cttccattca gactactttt 480  
 acgagcaggt cctttacgcc ttggagcagg ataacttctg tgatttcgag attcagttgg 540  
 agatattaca caatgcattg cattctttac ttgggtggcaa aggtaaatat tccatgtcaa 600  
 accttgatta cgtgctttt gatcctgtgt tcttcttca tcacgcaacg actgacagaa 660  
 tctgggcaat ctggcaagac cttcagaggt tccgaaaaac gccataccga gaagcgaatt 720  
 gcgctatcca attgatgcac acgccactcc agccgtttga taagagcgac aacaatgacg 780  
 aggcaacgaa aacgcattgc actccacatg atggttttga atatcaaaac agctttgggt 840  
 atgcttacga taatctggaa ctgaatcact actcgattcc tcagcttgat cacatgctgc 900  
 aagaaagaaa aaggcatgac agagtattcg ctggcttcc ccttcacaat attggaacat 960  
 ctgccgatgg ccatgtattt gtatgtctcc caactgggga acacacgaag gactgcagtc 1020  
 atgaggctgg tatgttctcc atcttaggcg gtcaaacgga gatgtcctt gtatttgaca 1080  
 gactttacaa acttgacata actaaagcct tgaaaaagaa cgggtgtgcac ctgcaagggg 1140  
 atttcgatct ggaaattgag attacggctg tgaatggatc tcatctagac agtcatgtca 1200  
 tccactctcc cactatactg tttgaggccg gaacag 1236

<210> 17

<211> 241

<212> DNA

<213> Megathura crenulata

<400> 17

attctgcccc cacagatgat ggacacactg aaccagtgat gattcgcaaa gatatcacac 60  
 aattggacaa gcgtcaacaa ctgtcactgg tgaaagccct cgagtccatg aaagccgacc 120  
 attcatctga tgggttccag gcaatcgctt ccttccatgc tcttccctct ctttgtccat 180  
 caccagctgc ttcaaagagg tttgcgtgct gcgtccatgg catgcccaacc ttcccgaat 240  
 g 241

<210> 18

<211> 623

<212> DNA

<213> Megathura crenulata

<400> 18

gcttcgctac actgcttttg atcctatatt ttacctccat cactcaaatg ttgatcgtct 60  
 ctgggccatt tggcaagctc ttcaaatacag gagaggcaag tcttacaagg cccactgcgc 120  
 ctctctcaa gaaagagaa cattaagcc ttttgcattc agttccccac tgaacaacaa 180  
 cgagaaaacg taccacaact ctgtccccac taacgtttat gactatgtgg gagttttgca 240

```
ctatcgatat gatgaccttc agtttggcgg tatgaccatg tcagaacttg aggaatatat 300
tcacaagcag acacaacatg atagaacctt tgcaggattc ttcctttcat atattggaac 360
atcagcaagc gtagatatct tcatcaatcg agaaggtcat gataaatata aagtgggaag 420
ttttgtagta cttggtggat ccaaagaaat gaaatggggc tttgatagaa tgtacaagta 480
tgagatcact gaggtcttga agacgctgaa tgttgcatg gatgatgggt tcagcattac 540
tgttgagatc accgatgttg atggatctcc cccatctgca gatctcattc cacctcctgc 600
tataatcttt gaacgtgggc atg 623
```

<210> 19  
 <211> 314  
 <212> DNA  
 <213> Megathura crenulata

```
<400> 19
ctgatgccaa agactttggc catagcagaa aaatcaggaa agacgttgat tctctgacag 60
tcgaagaaca aacttcgttg aggcgagcta tggcagatct acaggacgac aaaacatcag 120
ggggtttcca gcagattgca gcattccacg gagaaccaa atggtgtcca agccccgaag 180
cggagaaaaa atttgcattg tgtgttcatt gaattggctg tttccctcac tggcacagat 240
tgctgacagt tcaaggagaa aatgctctga ggaaacatgg ctttactggg ggactgcctt 300
actgggactg gaca 314
```

<210> 20  
 <211> 408  
 <212> PRT  
 <213> Haliotis tuberculata

<220>  
 <221> DOMAIN  
 <222> (1)..(408)  
 <223> HtH 1 Domäne b

```
<400> 20
Asp His Leu Thr Arg Glu Glu Glu Tyr Glu Leu Arg Met Ala Leu Glu
  1                5                10                15

Arg Phe Gln Ala Asp Thr Ser Val Asp Gly Tyr Gln Ala Thr Val Glu
                20                25                30

Tyr His Gly Leu Pro Ala Arg Cys Pro Arg Pro Asp Ala Lys Val Arg
                35                40                45

Phe Ala Cys Cys Met His Gly Met Ala Ser Phe Pro His Trp His Arg
  50                55                60

Leu Phe Val Thr Gln Val Glu Asp Ala Leu Val Arg Arg Gly Ser Pro
  65                70                75                80

Ile Gly Val Pro Tyr Trp Asp Trp Thr Lys Pro Met Thr His Leu Pro
                85                90                95

Asp Leu Ala Ser Asn Glu Thr Tyr Val Asp Pro Tyr Gly His Thr His
                100                105                110

His Asn Pro Phe Phe Asn Ala Asn Ile Ser Phe Glu Glu Gly His His
                115                120                125

His Thr Ser Arg Met Ile Asp Ser Lys Leu Phe Ala Pro Val Ala Phe
  130                135                140
```

22.03.00

Gly Glu His Ser His Leu Phe Asp Gly Ile Leu Tyr Ala Phe Glu Gln  
145 150 155 160

Glu Asp Phe Cys Asp Phe Glu Ile Gln Phe Glu Leu Val His Asn Ser  
165 170 175

Ile His Ala Trp Ile Gly Gly Ser Glu Asp Tyr Ser Met Ala Thr Leu  
180 185 190

His Tyr Thr Ala Phe Asp Pro Ile Phe Tyr Leu His His Ser Asn Val  
195 200 205

Asp Arg Leu Trp Ala Ile Trp Gln Ala Leu Gln Ile Arg Arg His Lys  
210 215 220

Pro Tyr Gln Ala His Cys Ala Gln Ser Val Glu Gln Leu Pro Met Lys  
225 230 235 240

Pro Phe Ala Phe Pro Ser Pro Leu Asn Asn Asn Glu Lys Thr His Ser  
245 250 255

His Ser Val Pro Thr Asp Ile Tyr Asp Tyr Glu Glu Val Leu His Tyr  
260 265 270

Ser Tyr Asp Asp Leu Thr Phe Gly Gly Met Asn Leu Glu Glu Ile Glu  
275 280 285

Glu Ala Ile His Leu Arg Gln Gln His Glu Arg Val Phe Ala Gly Phe  
290 295 300

Leu Leu Ala Gly Ile Gly Thr Ser Ala Leu Val Asp Ile Phe Ile Asn  
305 310 315 320

Lys Pro Gly Thr Gln Pro Leu Lys Ala Gly Asp Ile Ala Ile Leu Gly  
325 330 335

Gly Ala Lys Glu Met Pro Trp Ala Phe Asp Arg Leu Tyr Lys Val Glu  
340 345 350

Ile Thr Asp Ser Leu Lys Thr Leu Ser Leu Asp Val Asp Gly Asp Tyr  
355 360 365

Glu Val Thr Phe Lys Ile His Asp Met His Gly Asn Ala Leu Asp Thr  
370 375 380

Asp Leu Ile Pro His Ala Ala Val Val Ser Glu Pro Ala His Pro Thr  
385 390 395 400

Phe Glu Asp Glu Lys His Ser Leu  
405

<210> 21

<211> 404

<212> PRT

<213> Haliotis tuberculata

<220>

22.03.00

<221> DOMAIN

<222> (1)..(404)

<223> HtH 1 Domäne c

<400> 21

Arg Ile Arg Lys Asn Val Asp Ser Leu Thr Pro Glu Glu Thr Asn Glu  
1 5 10 15

Leu Arg Lys Ala Leu Glu Leu Leu Glu Asn Asp His Thr Val Gly Gly  
20 25 30

Phe Asn Gln Leu Gly Ala Phe His Gly Glu Pro Lys Trp Cys Pro Asn  
35 40 45

Pro Glu Ala Glu His Lys Val Ala Cys Cys Val His Gly Met Ala Val  
50 55 60

Phe Pro His Trp His Arg Leu Leu Ala Leu Gln Ala Glu Asn Ala Leu  
65 70 75 80

Arg Lys His Gly Tyr Ser Gly Ala Leu Pro Tyr Trp Asp Trp Thr Arg  
85 90 95

Pro Leu Ser Gln Leu Pro Asp Leu Val Ser His Glu Gln Tyr Thr Asp  
100 105 110

Pro Ser Asp His His Val Lys His Asn Pro Trp Phe Asn Gly His Ile  
115 120 125

Asp Thr Val Asn Gln Asp Thr Thr Arg Ser Val Arg Glu Asp Leu Tyr  
130 135 140

Gln Gln Pro Glu Phe Gly His Phe Thr Asp Ile Ala Gln Gln Val Leu  
145 150 155 160

Leu Ala Leu Glu Gln Asp Asp Phe Cys Ser Phe Glu Val Gln Tyr Glu  
165 170 175

Ile Ser His Asn Phe Ile His Ala Leu Val Gly Gly Thr Asp Ala Tyr  
180 185 190

Gly Met Ala Ser Leu Arg Tyr Thr Ala Tyr Asp Pro Ile Phe Phe Leu  
195 200 205

His His Ser Asn Thr Asp Arg Ile Trp Ala Ile Trp Gln Ser Leu Gln  
210 215 220

Lys Tyr Arg Gly Lys Pro Tyr Asn Thr Ala Asn Cys Ala Ile Glu Ser  
225 230 235 240

Met Arg Arg Pro Leu Gln Pro Phe Gly Leu Ser Ser Ala Ile Asn Pro  
245 250 255

Asp Arg Ile Thr Arg Glu His Ala Ile Pro Phe Asp Val Phe Asn Tyr  
260 265 270

Arg Asp Asn Leu His Tyr Val Tyr Asp Thr Leu Glu Phe Asn Gly Leu  
275 280 285

Ser Ile Ser Gln Leu Asp Arg Glu Leu Glu Lys Ile Lys Ser His Glu  
290 295 300

Arg Val Phe Ala Gly Phe Leu Leu Ser Gly Ile Lys Lys Ser Ala Leu  
305 310 315 320

Val Lys Phe Glu Val Cys Thr Pro Pro Asp Asn Cys His Lys Ala Gly  
325 330 335

Glu Phe Tyr Leu Leu Gly Asp Glu Asn Glu Met Ala Trp Ala Tyr Asp  
340 345 350

Arg Leu Phe Lys Tyr Asp Ile Thr Gln Val Leu Glu Ala Asn His Leu  
355 360 365

His Phe Tyr Asp His Leu Phe Ile Arg Tyr Glu Val Phe Asp Leu Lys  
370 375 380

Gly Val Ser Leu Gly Thr Asp Leu Phe His Thr Ala Asn Val Val His  
385 390 395 400

Asp Ser Gly Thr

<210> 22  
<211> 413  
<212> PRT  
<213> Haliotis tuberculata

<220>  
<221> DOMAIN  
<222> (1)..(413)  
<223> HtH 1 Domäne d

<400> 22  
Gly Thr Arg Asp Arg Asp Asn Tyr Val Glu Glu Val Thr Gly Ala Ser  
1 5 10 15

His Ile Arg Lys Asn Leu Asn Asp Leu Asn Thr Gly Glu Met Glu Ser  
20 25 30

Leu Arg Ala Ala Phe Leu His Ile Gln Asp Asp Gly Thr Tyr Glu Ser  
35 40 45

Ile Ala Gln Tyr His Gly Lys Pro Gly Lys Cys Gln Leu Asn Asp His  
50 55 60

Asn Ile Ala Cys Cys Val His Gly Met Pro Thr Phe Pro Gln Trp His  
65 70 75 80

Arg Leu Tyr Val Val Gln Val Glu Asn Ala Leu Leu Asn Arg Gly Ser  
85 90 95

Gly Val Ala Val Pro Tyr Trp Glu Trp Thr Ala Pro Ile Asp His Leu  
100 105 110

Pro His Phe Ile Asp Asp Ala Thr Tyr Phe Asn Ser Arg Gln Gln Arg  
115 120 125

Tyr Asp Pro Asn Pro Phe Phe Arg Gly Lys Val Thr Phe Glu Asn Ala  
130 135 140

Val Thr Thr Arg Asp Pro Gln Ala Gly Leu Phe Asn Ser Asp Tyr Met  
145 150 155 160

Tyr Glu Asn Val Leu Leu Ala Leu Glu Gln Glu Asn Tyr Cys Asp Phe  
165 170 175

Glu Ile Gln Phe Glu Leu Val His Asn Ala Leu His Ser Met Leu Gly  
180 185 190

Gly Lys Gly Gln Tyr Ser Met Ser Ser Leu Asp Tyr Ser Ala Phe Asp  
195 200 205

Pro Val Phe Phe Leu His His Ala Asn Thr Asp Arg Leu Trp Ala Ile  
210 215 220

Trp Gln Glu Leu Gln Arg Phe Arg Glu Leu Pro Tyr Glu Glu Ala Asn  
225 230 235 240

Cys Ala Ile Asn Leu Met His Gln Pro Leu Lys Pro Phe Ser Asp Pro  
245 250 255

His Glu Asn His Asp Asn Val Thr Leu Lys Tyr Ser Lys Pro Gln Asp  
260 265 270

Gly Phe Asp Tyr Gln Asn His Phe Gly Tyr Lys Tyr Asp Asn Leu Glu  
275 280 285

Phe His His Leu Ser Ile Pro Ser Leu Asp Ala Thr Leu Lys Gln Arg  
290 295 300

Arg His His Asp Arg Val Phe Ala Gly Phe Leu Leu His Asn Ile Gly  
305 310 315 320

Thr Ser Ala Asp Ile Thr Ile Tyr Ile Cys Leu Pro Asp Gly Arg Arg  
325 330 335

ly Asn Asp Cys Ser His Glu Ala Gly Thr Phe Tyr Ile Leu Gly Gly  
340 345 350

Glu Thr Glu Met Pro Phe Ile Phe Asp Arg Leu Tyr Lys Phe Glu Ile  
355 360 365

Thr Lys Pro Leu Gln Gln Leu Gly Val Lys Leu His Gly Gly Val Phe  
370 375 380

Glu Leu Glu Leu Glu Ile Lys Ala Tyr Asn Gly Ser Tyr Leu Asp Pro  
385 390 395 400

His Thr Phe Asp Pro Thr Ile Ile Phe Glu Pro Gly Thr  
405 410

<210> 23  
<211> 420  
<212> PRT

<213> Haliotis tuberculata

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)..(420)

<223> HtH 1 Domäne e

<400> 23

Asp Thr His Ile Leu Asp His Asp His Glu Glu Glu Ile Leu Val Arg  
1 5 10 15

Lys Asn Ile Ile Asp Leu Ser Pro Arg Glu Arg Val Ser Leu Val Lys  
20 25 30

Ala Leu Gln Arg Met Lys Asn Asp Arg Ser Ala Asp Gly Tyr Gln Ala  
35 40 45

Ile Ala Ser Phe His Ala Leu Pro Pro Leu Cys Pro Asn Pro Ser Ala  
50 55 60

Ala His Arg Tyr Ala Cys Cys Val His Gly Met Ala Thr Phe Pro Gln  
65 70 75 80

Trp His Arg Leu Tyr Thr Val Gln Val Gln Asp Ala Leu Arg Arg His  
85 90 95

Gly Ser Leu Val Gly Ile Pro Tyr Trp Asp Trp Thr Lys Pro Val Asn  
100 105 110

Glu Leu Pro Glu Leu Leu Ser Ser Ala Thr Phe Tyr His Pro Ile Arg  
115 120 125

Asn Ile Asn Ile Ser Asn Pro Phe Leu Gly Ala Asp Ile Glu Phe Glu  
130 135 140

Gly Pro Gly Val His Thr Glu Arg His Ile Asn Thr Glu Arg Leu Phe  
145 150 155 160

His Ser Gly Asp His Asp Gly Tyr His Asn Trp Phe Phe Glu Thr Val  
165 170 175

Leu Phe Ala Leu Glu Gln Glu Asp Tyr Cys Asp Phe Glu Ile Gln Phe  
180 185 190

Glu Ile Ala His Asn Gly Ile His Thr Trp Ile Gly Gly Ser Ala Val  
195 200 205

His Gly Met Gly His Leu His Tyr Ala Ser Tyr Asp Pro Ile Phe Tyr  
210 215 220

Ile His His Ser Gln Thr Asp Arg Ile Trp Ala Ile Trp Gln Glu Leu  
225 230 235 240

Gln Lys Tyr Arg Gly Leu Ser Gly Ser Glu Ala Asn Cys Ala Ile Glu  
245 250 255

His Met Arg Thr Pro Leu Lys Pro Phe Ser Phe Gly Pro Pro Tyr Asn  
260 265 270

22.03.00  
43

Leu Asn Ser His Thr Gln Glu Tyr Ser Lys Pro Glu Asp Thr Phe Asp  
275 280 285

Tyr Lys Lys Phe Gly Tyr Arg Tyr Asp Ser Leu Glu Leu Glu Gly Arg  
290 295 300

Ser Ile Ser Arg Ile Asp Glu Leu Ile Gln Gln Arg Gln Glu Lys Asp  
305 310 315 320

Arg Thr Phe Ala Gly Phe Leu Leu Lys Gly Phe Gly Thr Ser Ala Ser  
325 330 335

Val Ser Leu Gln Val Cys Arg Val Asp His Thr Cys Lys Asp Ala Gly  
340 345 350

Tyr Phe Thr Ile Leu Gly Gly Ser Ala Glu Met Pro Trp Ala Phe Asp  
355 360 365

Arg Leu Tyr Lys Tyr Asp Ile Thr Lys Thr Leu His Asp Met Asn Leu  
370 375 380

Arg His Glu Asp Thr Phe Ser Ile Asp Val Thr Ile Thr Ser Tyr Asn  
385 390 395 400

Gly Thr Val Leu Ser Gly Asp Leu Ile Gln Thr Pro Ser Ile Ile Phe  
405 410 415

Val Pro Gly Arg  
420

<210> 24

<211> 417

<212> PRT

<213> Haliotis tuberculata

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)..(417)

<223> HtH 1 Domäne f

<400> 24

His Lys Leu Asn Ser Arg Lys His Thr Pro Asn Arg Val Arg His Glu  
1 5 10 15

Leu Ser Ser Leu Ser Ser Arg Asp Ile Ala Ser Leu Lys Ala Ala Leu  
20 25 30

Thr Ser Leu Gln His Asp Asn Gly Thr Asp Gly Tyr Gln Ala Ile Ala  
35 40 45

Ala Phe His Gly Val Pro Ala Gln Cys His Glu Pro Ser Gly Arg Glu  
50 55 60

Ile Ala Cys Cys Ile His Gly Met Ala Thr Phe Pro His Trp His Arg  
65 70 75 80

Leu Tyr Thr Leu Gln Leu Glu Gln Ala Leu Arg Arg His Gly Ser Ser  
85 90 95



Val	Ala	Val	Pro	Tyr	Trp	Asp	Trp	Thr	Lys	Pro	Ile	Thr	Glu	Leu	Pro	100	105	110	
His	Ile	Leu	Thr	Asp	Gly	Glu	Tyr	Tyr	Asp	Val	Trp	Gln	Asn	Ala	Val	115	120	125	
Leu	Ala	Asn	Pro	Phe	Ala	Arg	Gly	Tyr	Val	Lys	Ile	Lys	Asp	Ala	Phe	130	135	140	
Thr	Val	Arg	Asn	Val	Gln	Glu	Ser	Leu	Phe	Lys	Met	Ser	Ser	Phe	Gly	145	150	155	160
Lys	His	Ser	Leu	Leu	Phe	Asp	Gln	Ala	Leu	Leu	Ala	Leu	Glu	Gln	Thr	165	170	175	
Asp	Tyr	Cys	Asp	Phe	Glu	Val	Gln	Phe	Glu	Val	Met	His	Asn	Thr	Ile	180	185	190	
His	Tyr	Leu	Val	Gly	Gly	Arg	Gln	Thr	Tyr	Ala	Phe	Ser	Ser	Leu	Glu	195	200	205	
Tyr	Ser	Ser	Tyr	Asp	Pro	Ile	Phe	Phe	Ile	His	His	Ser	Phe	Val	Asp	210	215	220	
Lys	Ile	Trp	Ala	Val	Trp	Gln	Glu	Leu	Gln	Ser	Arg	Arg	His	Leu	Gln	225	230	235	240
Phe	Arg	Thr	Ala	Asp	Cys	Ala	Val	Gly	Leu	Met	Gly	Gln	Ala	Met	Arg	245	250	255	
Pro	Phe	Asn	Lys	Asp	Phe	Asn	His	Asn	Ser	Phe	Thr	Lys	Lys	His	Ala	260	265	270	
Val	Pro	Asn	Thr	Val	Phe	Asp	Tyr	Glu	Asp	Leu	Gly	Tyr	Asn	Tyr	Asp	275	280	285	
Asn	Leu	Glu	Ile	Ser	Gly	Leu	Asn	Leu	Asn	Glu	Ile	Glu	Ala	Leu	Ile	290	295	300	
Ala	Lys	Arg	Lys	Ser	His	Ala	Arg	Val	Phe	Ala	Gly	Phe	Leu	Leu	Phe	305	310	315	320
Gly	Leu	Gly	Thr	Ser	Ala	Asp	Ile	His	Leu	Glu	Ile	Cys	Lys	Thr	Ser	325	330	335	
Glu	Asn	Cys	His	Asp	Ala	Gly	Val	Ile	Phe	Ile	Leu	Gly	Gly	Ser	Ala	340	345	350	
Glu	Met	His	Trp	Ala	Tyr	Asn	Arg	Leu	Tyr	Lys	Tyr	Asp	Ile	Thr	Glu	355	360	365	
Ala	Leu	Gln	Glu	Phe	Asp	Ile	Asn	Pro	Glu	Asp	Val	Phe	His	Ala	Asp	370	375	380	
Glu	Pro	Phe	Phe	Leu	Arg	Leu	Ser	Val	Val	Ala	Val	Asn	Gly	Thr	Val	385	390	395	400
Ile	Pro	Ser	Ser	His	Leu	His	Gln	Pro	Thr	Ile	Ile	Tyr	Glu	Pro	Gly				

Glu

<210> 25  
 <211> 403  
 <212> PRT  
 <213> Haliotis tuberculata

<220>  
 <221> DOMAIN  
 <222> (1)..(403)  
 <223> HtH 1 Domäne g

<400> 25  
 Asp His His Asp Asp His Gln Ser Gly Ser Ile Ala Gly Ser Gly Val  
           1                  5                  10                  15  
 Arg Lys Asp Val Asn Thr Leu Thr Lys Ala Glu Thr Asp Asn Leu Arg  
                   20                  25                  30  
 Glu Ala Leu Trp Gly Val Met Ala Asp His Gly Pro Asn Gly Phe Gln  
           35                  40                  45  
 Ala Ile Ala Ala Phe His Gly Lys Pro Ala Leu Cys Pro Met Pro Asp  
           50                  55                  60  
 Gly His Asn Tyr Ser Cys Cys Thr His Gly Met Ala Thr Phe Pro His  
           65                  70                  75                  80  
 Trp His Arg Leu Tyr Thr Lys Gln Met Glu Asp Ala Met Arg Ala His  
                   85                  90                  95  
 Gly Ser His Val Gly Leu Pro Tyr Trp Asp Trp Thr Ala Ala Phe Thr  
                   100                  105                  110  
 His Leu Pro Thr Leu Val Thr Asp Thr Asp Asn Asn Pro Phe Gln His  
           115                  120                  125  
 Gly His Ile Asp Tyr Leu Asn Val Ser Thr Thr Arg Ser Pro Arg Asp  
           130                  135                  140  
 Met Leu Phe Asn Asp Pro Glu His Gly Ser Glu Ser Phe Phe Tyr Arg  
           145                  150                  155                  160  
 Gln Val Leu Leu Ala Leu Glu Gln Thr Asp Phe Cys Lys Phe Glu Val  
                   165                  170                  175  
 Gln Phe Glu Ile Thr His Asn Ala Ile His Ser Trp Thr Gly Gly His  
                   180                  185                  190  
 Ser Pro Tyr Gly Met Ser Thr Leu Asp Phe Thr Ala Tyr Asp Pro Leu  
                   195                  200                  205  
 Phe Trp Leu His His Ser Asn Thr Asp Arg Ile Trp Ala Val Trp Gln  
           210                  215                  220

22.03.00

46.

Ala Leu Gln Glu Tyr Arg Gly Leu Pro Tyr Asn His Ala Asn Cys Glu  
225 230 235 240

Ile Gln Ala Met Lys Thr Pro Leu Arg Pro Phe Ser Asp Asp Ile Asn  
245 250 255

His Asn Pro Val Thr Lys Ala Asn Ala Lys Pro Leu Asp Val Phe Glu  
260 265 270

Tyr Asn Arg Leu Ser Phe Gln Tyr Asp Asn Leu Ile Phe His Gly Tyr  
275 280 285

Ser Ile Pro Glu Leu Asp Arg Val Leu Glu Glu Arg Lys Glu Glu Asp  
290 295 300

Arg Ile Phe Ala Ala Phe Leu Leu Ser Gly Ile Lys Arg Ser Ala Asp  
305 310 315 320

Val Val Phe Asp Ile Cys Gln Pro Gly His Glu Cys Val Phe Ala Gly  
325 330 335

Thr Phe Ala Ile Leu Gly Gly Glu Leu Glu Met Pro Trp Ser Phe Asp  
340 345 350

Arg Leu Phe Arg Tyr Asp Ile Thr Lys Val Met Lys Gln Leu His Leu  
355 360 365

Arg His Asp Ser Asp Phe Thr Phe Arg Val Lys Ile Val Gly Thr Asp  
370 375 380

Asp His Glu Leu Pro Ser Asp Ser Val Lys Ala Pro Thr Ile Glu Phe  
385 390 395 400

Glu Pro Gly

<210> 26

<211> 511

<212> PRT

<213> Haliotis tuberculata

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)..(511)

<223> HtH 1 Domäne h

<400> 26

Val His Arg Gly Gly Lys His Glu Asp Glu His His Asp Asp Arg Leu  
1 5 10 15

Ala Asp Val Leu Ile Arg Lys Glu Val Asp Phe Leu Ser Leu Gln Glu  
20 25 30

Ala Asn Ala Ile Lys Asp Ala Leu Tyr Lys Leu Gln Asn Asp Asp Ser  
35 40 45

Lys Gly Gly Phe Glu Ala Ile Ala Gly Tyr His Gly Tyr Pro Asn Met  
50 55 60

22.03.00  
47.

Cys Pro Glu Arg Gly Thr Asp Lys Tyr Pro Cys Cys Val His Gly Met  
65 70 75 80

Pro Val Phe Pro His Trp His Arg Leu His Thr Ile Gln Met Glu Arg  
85 90 95

Ala Leu Lys Asn His Gly Ser Pro Met Gly Ile Pro Tyr Trp Asp Trp  
100 105 110

Thr Lys Lys Met Ser Ser Leu Pro Ser Phe Phe Gly Asp Ser Ser Asn  
115 120 125

Asn Asn Pro Phe Tyr Lys Tyr Tyr Ile Arg Gly Val Gln His Glu Thr  
130 135 140

Thr Arg Asp Val Asn Gln Arg Leu Phe Asn Gln Thr Lys Phe Gly Glu  
145 150 155 160

Phe Asp Tyr Leu Tyr Tyr Leu Thr Leu Gln Val Leu Glu Glu Asn Ser  
165 170 175

Tyr Cys Asp Phe Glu Val Gln Tyr Glu Ile Leu His Asn Ala Val His  
180 185 190

Ser Trp Leu Gly Gly Thr Gly Gln Tyr Ser Met Ser Thr Leu Glu Tyr  
195 200 205

Ser Ala Phe Asp Pro Val Phe Met Ile His His Ser Ser Leu Asp Arg  
210 215 220

Ile Trp Ile Leu Trp Gln Lys Leu Gln Lys Ile Arg Met Lys Pro Tyr  
225 230 235 240

Tyr Ala Leu Asp Cys Ala Gly Asp Arg Leu Met Lys Asp Pro Leu His  
245 250 255

Pro Phe Asn Tyr Glu Thr Val Asn Glu Asp Glu Phe Thr Arg Ile Asn  
260 265 270

Ser Phe Pro Ser Ile Leu Phe Asp His Tyr Arg Phe Asn Tyr Glu Tyr  
275 280 285

Asp Asn Met Arg Ile Arg Gly Gln Asp Ile His Glu Leu Glu Glu Val  
290 295 300

Ile Gln Glu Leu Arg Asn Lys Asp Arg Ile Phe Ala Gly Phe Val Leu  
305 310 315 320

Ser Gly Leu Arg Ile Ser Ala Thr Val Lys Val Phe Ile His Ser Lys  
325 330 335

Asn Asp Thr Ser His Glu Glu Tyr Ala Gly Glu Phe Ala Val Leu Gly  
340 345 350

Gly Glu Lys Glu Met Pro Trp Ala Tyr Glu Arg Met Leu Lys Leu Asp  
355 360 365

Ile Ser Asp Ala Val His Lys Leu His Val Lys Asp Glu Asp Ile Arg

370

375

380

Phe Arg Val Val Val Thr Ala Tyr Asn Gly Asp Val Val Thr Thr Arg  
385 390 395 400

Leu Ser Gln Pro Phe Ile Val His Arg Pro Ala His Val Ala His Asp  
405 410 415

Ile Leu Val Ile Pro Val Gly Ala Gly His Asp Leu Pro Pro Lys Val  
420 425 430

Val Val Lys Ser Gly Thr Lys Val Glu Phe Thr Pro Ile Asp Ser Ser  
435 440 445

Val Asn Lys Ala Met Val Glu Leu Gly Ser Tyr Thr Ala Met Ala Lys  
450 455 460

Cys Ile Val Pro Pro Phe Ser Tyr His Gly Phe Glu Leu Asp Lys Val  
465 470 475 480

Tyr Ser Val Asp His Gly Asp Tyr Tyr Ile Ala Ala Gly Thr His Ala  
485 490 495

Leu Cys Glu Gln Asn Leu Arg Leu His Ile His Val Glu His Glu  
500 505 510

&lt;210&gt; 27

&lt;211&gt; 104

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Haliotis tuberculata

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; DOMAIN

&lt;222&gt; (1)..(104)

&lt;223&gt; Partielle HtH 2 Domäne h

&lt;400&gt; 27

Phe Phe Leu Ser His Ile Gly Thr Ser Ala Asn Val Glu Ile Ile Ile  
1 5 10 15

Asp His Gly Thr Leu His Thr Ser Val Gly Thr Phe Ala Val Leu Gly  
20 25 30

Gly Glu Lys Glu Met Lys Trp Gly Phe Asp Arg Leu Tyr Lys Tyr Glu  
35 40 45

Ile Thr Asp Glu Leu Arg Gln Leu Asn Leu Arg Ala Asp Asp Val Phe  
50 55 60

Ser Ile Ser Val Lys Val Thr Asp Val Asp Gly Ser Glu Leu Ser Ser  
65 70 75 80

Glu Leu Ile Pro Ser Ala Ala Ile Ile Phe Glu Arg Ser His Ile Asp  
85 90 95

His Gln Asp Pro His His Asp Thr  
100

22.03.00  
49

<210> 28  
<211> 408  
<212> PRT  
<213> Haliotis tuberculata

<220>  
<221> DOMAIN  
<222> (1)..(408)  
<223> HtH 2 Domäne c

<400> 28  
Ile Ile Arg Lys Asn Val Asp Asn Leu Thr Pro Glu Glu Ile Asn Ser  
1 5 10 15

Leu Arg Arg Ala Met Ala Asp Leu Gln Ser Asp Lys Thr Ala Gly Gly  
20 25 30

Phe Gln Gln Ile Ala Ala Phe His Gly Glu Pro Lys Trp Cys Pro Ser  
35 40 45

Pro Asp Ala Glu Lys Lys Phe Ser Cys Cys Val His Gly Met Ala Val  
50 55 60

Phe Pro His Trp His Arg Leu Leu Thr Val Gln Gly Glu Asn Ala Leu  
65 70 75 80

Arg Lys His Gly Cys Leu Gly Ala Leu Pro Tyr Trp Asp Trp Thr Arg  
85 90 95

Pro Leu Ser His Leu Pro Asp Leu Val Leu Val Ser Ser Arg Thr Thr  
100 105 110

Pro Met Pro Tyr Ser Thr Val Glu Ala Arg Asn Pro Trp Tyr Ser Gly  
115 120 125

His Ile Asp Thr Val Gly Val Asp Thr Thr Arg Ser Val Arg Gln Glu  
130 135 140

Leu Tyr Glu Ala Pro Gly Phe Gly His Tyr Thr Gly Val Ala Lys Gln  
145 150 155 160

Val Leu Leu Ala Leu Glu Gln Asp Asp Phe Cys Asp Phe Glu Val Gln  
165 170 175

Phe Glu Ile Ala His Asn Phe Ile His Ala Leu Val Gly Gly Ser Glu  
180 185 190

Pro Tyr Gly Met Ala Ser Leu Arg Tyr Thr Thr Tyr Asp Pro Ile Phe  
195 200 205

Tyr Leu His His Ser Asn Thr Asp Arg Leu Trp Ala Ile Trp Gln Ala  
210 215 220

Leu Gln Lys Tyr Arg Gly Lys Pro Tyr Asn Ser Ala Asn Cys Ala Ile  
225 230 235 240

Ala Ser Met Arg Lys Pro Leu Gln Pro Phe Gly Leu Thr Asp Glu Ile  
245 250 255

22.03.00

50.

Asn Pro Asp Asp Glu Thr Arg Gln His Ala Val Pro Phe Ser Val Phe  
260 265 270

Asp Tyr Lys Asn Asn Phe Asn Tyr Glu Tyr Asp Thr Leu Asp Phe Asn  
275 280 285

Gly Leu Ser Ile Ser Gln Leu Asp Arg Glu Leu Ser Arg Arg Lys Ser  
290 295 300

His Asp Arg Val Phe Ala Gly Phe Leu Leu His Gly Ile Gln Gln Ser  
305 310 315 320

Ala Leu Val Lys Phe Phe Val Cys Lys Ser Asp Asp Asp Cys Asp His  
325 330 335

Tyr Ala Gly Glu Phe Tyr Ile Leu Gly Asp Glu Ala Glu Met Pro Trp  
340 345 350

Gly Tyr Asp Arg Leu Tyr Lys Tyr Glu Ile Thr Glu Gln Leu Asn Ala  
355 360 365

Leu Asp Leu His Ile Gly Asp Arg Phe Phe Ile Arg Tyr Glu Ala Phe  
370 375 380

Asp Leu His Gly Thr Ser Leu Gly Ser Asn Ile Phe Pro Lys Pro Ser  
385 390 395 400

Val Ile His Asp Glu Gly Ala Gly  
405

<210> 29  
<211> 421  
<212> PRT  
<213> Haliotis tuberculata

<220>  
<221> DOMAIN  
<222> (1)..(421)  
<223> HtH 2 Domäne d

<400> 29  
His His Gln Ala Asp Glu Tyr Asp Glu Val Val Thr Ala Ala Ser His  
1 5 10 15

Ile Arg Lys Asn Leu Lys Asp Leu Ser Lys Gly Glu Val Glu Ser Leu  
20 25 30

Arg Ser Ala Phe Leu Gln Leu Gln Asn Asp Gly Val Tyr Glu Asn Ile  
35 40 45

Ala Lys Phe His Gly Lys Pro Gly Leu Cys Asp Asp Asn Gly Arg Lys  
50 55 60

Val Ala Cys Cys Val His Gly Met Pro Thr Phe Pro Gln Trp His Arg  
65 70 75 80

Leu Tyr Val Leu Gln Val Glu Asn Ala Leu Leu Glu Arg Gly Ser Ala

22:03:00

85

90

95

Val Ser Val Pro Tyr Trp Asp Trp Thr Glu Thr Phe Thr Glu Leu Pro  
100 105 110

Ser Leu Ile Ala Glu Ala Thr Tyr Phe Asn Ser Arg Gln Gln Thr Phe  
115 120 125

Asp Pro Asn Pro Phe Phe Arg Gly Lys Ile Ser Phe Glu Asn Ala Val  
130 135 140

Thr Thr Arg Asp Pro Gln Pro Glu Leu Tyr Val Asn Arg Tyr Tyr Tyr  
145 150 155 160

Gln Asn Val Met Leu Val Phe Glu Gln Asp Asn Tyr Cys Asp Phe Glu  
165 170 175

Ile Gln Phe Glu Met Val His Asn Val Leu His Ala Trp Leu Gly Gly  
180 185 190

Arg Ala Thr Tyr Ser Ile Ser Ser Leu Asp Tyr Ser Ala Phe Asp Pro  
195 200 205

Val Phe Phe Leu His His Ala Asn Thr Asp Arg Leu Trp Ala Ile Trp  
210 215 220

Gln Glu Leu Gln Arg Tyr Arg Lys Lys Pro Tyr Asn Glu Ala Asp Cys  
225 230 235 240

Ala Ile Asn Leu Met Arg Lys Pro Leu His Pro Phe Asp Asn Ser Asp  
245 250 255

Leu Asn His Asp Pro Val Thr Phe Lys Tyr Ser Lys Pro Thr Asp Gly  
260 265 270

Phe Asp Tyr Gln Asn Asn Phe Gly Tyr Lys Tyr Asp Asn Leu Glu Phe  
275 280 285

Asn His Phe Ser Ile Pro Arg Leu Glu Glu Ile Ile Arg Ile Arg Gln  
290 295 300

Arg Gln Asp Arg Val Phe Ala Gly Phe Leu Leu His Asn Ile Gly Thr  
305 310 315 320

Ser Ala Thr Val Glu Ile Phe Val Cys Val Pro Thr Thr Ser Gly Glu  
325 330 335

Gln Asn Cys Glu Asn Lys Ala Gly Thr Phe Ala Val Leu Gly Gly Glu  
340 345 350

Thr Glu Met Ala Phe His Phe Asp Arg Leu Tyr Arg Phe Asp Ile Ser  
355 360 365

Glu Thr Leu Arg Asp Leu Gly Ile Gln Leu Asp Ser His Asp Phe Asp  
370 375 380

Leu Ser Ile Lys Ile Gln Gly Val Asn Gly Ser Tyr Leu Asp Pro His  
385 390 395 400



Ile Leu Pro Glu Pro Ser Leu Ile Phe Val Pro Gly Ser Ser Ser Phe  
405 410 415

Leu Arg Pro Asp Gly  
420

<210> 30  
<211> 410  
<212> PRT  
<213> Haliotis tuberculata

<220>  
<221> DOMAIN  
<222> (1)..(410)  
<223> HtH 2 Domäne e

<400> 30  
His Ser Asp Asp Ile Leu Val Arg Lys Glu Val Asn Ser Leu Thr Thr  
1 5 10 15

Arg Glu Thr Ala Ser Leu Ile His Ala Leu Lys Ser Met Gln Glu Asp  
20 25 30

His Ser Pro Asp Gly Phe Gln Ala Ile Ala Ser Phe His Ala Leu Pro  
35 40 45

Pro Leu Cys Pro Ser Pro Ser Ala Ala His Arg Tyr Ala Cys Cys Val  
50 55 60

His Gly Met Ala Thr Phe Pro Gln Trp His Arg Leu Tyr Thr Val Gln  
65 70 75 80

Phe Gln Asp Ala Leu Arg Arg His Gly Ala Thr Val Gly Val Pro Tyr  
85 90 95

Trp Asp Trp Leu Arg Pro Gln Ser His Leu Pro Glu Leu Val Thr Met  
100 105 110

Glu Thr Tyr His Asp Ile Trp Ser Asn Arg Asp Phe Pro Asn Pro Phe  
115 120 125

Tyr Gln Ala Asn Ile Glu Phe Glu Gly Glu Asn Ile Thr Thr Glu Arg  
130 135 140

Glu Val Ile Ala Asp Lys Leu Phe Val Lys Gly Gly His Val Phe Asp  
145 150 155 160

Asn Trp Phe Phe Lys Gln Ala Ile Leu Ala Leu Glu Gln Glu Asn Tyr  
165 170 175

Cys Asp Phe Glu Ile Gln Phe Glu Ile Leu His Asn Gly Val His Thr  
180 185 190

Trp Val Gly Gly Ser Arg Thr Tyr Ser Ile Gly His Leu His Tyr Ala  
195 200 205

Phe Tyr Asp Pro Leu Phe Tyr Leu His His Ser Gln Thr Asp Arg Ile  
210 215 220

Trp Ala Ile Trp Gln Glu Leu Gln Glu Gln Arg Gly Leu Ser Gly Asp  
 225 230 235 240

Glu Ala His Cys Ala Leu Glu Gln Met Arg Glu Pro Leu Lys Pro Phe  
 245 250 255

Ser Phe Gly Ala Pro Tyr Asn Trp Asn Gln Leu Thr Gln Asp Phe Ser  
 260 265 270

Arg Pro Glu Asp Thr Phe Asp Tyr Arg Lys Phe Gly Tyr Glu Tyr Asp  
 275 280 285

Asn Leu Glu Phe Leu Gly Met Ser Val Ala Glu Leu Asp Gln Tyr Ile  
 290 295 300

Ile Glu His Gln Glu Asn Asp Arg Val Phe Ala Gly Phe Leu Leu Ser  
 305 310 315 320

Gly Phe Gly Gly Ser Ala Ser Val Asn Phe Gln Val Cys Arg Ala Asp  
 325 330 335

Ser Thr Cys Gln Asp Ala Gly Tyr Phe Thr Val Leu Gly Gly Ser Ala  
 340 345 350

Glu Met Ala Trp Ala Phe Asp Arg Leu Tyr Lys Tyr Asp Ile Thr Glu  
 355 360 365

Thr Leu Glu Lys Met His Leu Arg Tyr Asp Asp Asp Phe Thr Ile Ser  
 370 375 380

Val Ser Leu Thr Ala Asn Asn Gly Thr Val Leu Ser Ser Ser Leu Ile  
 385 390 395 400

Pro Thr Pro Ser Val Ile Phe Gln Arg Gly  
 405 410

<210> 31

<211> 417

<212> PRT

<213> Haliotis tuberculata

<220>

<221> DOMAIN

<222> (1)..(417)

<223> HtH 2 Domäne f

<400> 31

His Arg Asp Ile Asn Thr Arg Ser Met Ser Pro Asn Arg Val Arg Arg  
 1 5 10 15

Glu Leu Ser Asp Leu Ser Ala Arg Asp Leu Ser Ser Leu Lys Ser Ala  
 20 25 30

Leu Arg Asp Leu Gln Glu Asp Asp Gly Pro Asn Gly Tyr Gln Ala Leu  
 35 40 45

Ala Ala Phe His Gly Leu Pro Ala Gly Cys His Asp Ser Arg Gly Asn

50		55		60
Glu Ile Ala Cys Cys Ile His Gly Met Pro Thr Phe Pro Gln Trp His				
65		70		80
Arg Leu Tyr Thr Leu Gln Leu Glu Met Ala Leu Arg Arg His Gly Ser				
	85		90	95
Ser Val Ala Ile Pro Tyr Trp Asp Trp Thr Lys Pro Ile Ser Glu Leu				
	100		105	110
Pro Ser Leu Phe Thr Ser Pro Glu Tyr Tyr Asp Pro Trp His Asp Ala				
	115		120	125
Val Val Asn Asn Pro Phe Ser Lys Gly Phe Val Lys Phe Ala Asn Thr				
	130		135	140
Tyr Thr Val Arg Asp Pro Gln Glu Met Leu Phe Gln Leu Cys Glu His				
	145		150	155
Gly Glu Ser Ile Leu Tyr Glu Gln Thr Leu Leu Ala Leu Glu Gln Thr				
	165		170	175
Asp Tyr Cys Asp Phe Glu Val Gln Phe Glu Val Leu His Asn Val Ile				
	180		185	190
His Tyr Leu Val Gly Gly Arg Gln Thr Tyr Ala Leu Ser Ser Leu His				
	195		200	205
Tyr Ala Ser Tyr Asp Pro Phe Phe Phe Ile His His Ser Phe Val Asp				
	210		215	220
Lys Met Trp Val Val Trp Gln Ala Leu Gln Lys Arg Arg Lys Leu Pro				
	225		230	235
Tyr Lys Arg Ala Asp Cys Ala Val Asn Leu Met Thr Lys Pro Met Arg				
	245		250	255
Pro Phe Asp Ser Asp Met Asn Gln Asn Pro Phe Thr Lys Met His Ala				
	260		265	270
Val Pro Asn Thr Leu Tyr Asp Tyr Glu Thr Leu Tyr Tyr Ser Tyr Asp				
	275		280	285
Asn Leu Glu Ile Gly Gly Arg Asn Leu Asp Gln Leu Gln Ala Glu Ile				
	290		295	300
Asp Arg Ser Arg Ser His Asp Arg Val Phe Ala Gly Phe Leu Leu Arg				
	305		310	315
Gly Ile Gly Thr Ser Ala Asp Val Arg Phe Trp Ile Cys Arg Asn Glu				
	325		330	335
Asn Asp Cys His Arg Gly Gly Ile Ile Phe Ile Leu Gly Gly Ala Lys				
	340		345	350
Glu Met Pro Trp Ser Phe Asp Arg Asn Phe Lys Phe Asp Ile Thr His				
	355		360	365

22.03.00

Val Leu Glu Asn Ala Gly Ile Ser Pro Glu Asp Val Phe Asp Ala Glu  
370 375 380

Glu Pro Phe Tyr Ile Lys Val Glu Ile His Ala Val Asn Lys Thr Met  
385 390 395 400

Ile Pro Ser Ser Val Ile Pro Ala Pro Thr Ile Ile Tyr Ser Pro Gly  
405 410 415

Glu

<210> 32  
<211> 403  
<212> PRT  
<213> Haliotis tuberculata

<220>  
<221> DOMAIN  
<222> (1)..(403)  
<223> HtH 2 Domäne g

<400> 32  
Gly Arg Ala Ala Asp Ser Ala His Ser Ala Asn Ile Ala Gly Ser Gly  
1 5 10 15

Val Arg Lys Asp Val Thr Thr Leu Thr Val Ser Glu Thr Glu Asn Leu  
20 25 30

Arg Gln Ala Leu Gln Gly Val Ile Asp Asp Thr Gly Pro Asn Gly Tyr  
35 40 45

Gln Ala Ile Ala Ser Phe His Gly Ser Pro Pro Met Cys Glu Met Asn  
50 55 60

Gly Arg Lys Gly Ala Cys Cys Ala His Gly Met Ala Ser Phe Pro His  
65 70 75 80

Trp His Arg Leu Tyr Val Lys Gln Met Glu Asp Ala Leu Ala Asp His  
85 90 95

Gly Ser His Ile Gly Ile Pro Tyr Trp Asp Trp Thr Thr Ala Phe Thr  
100 105 110

Glu Leu Pro Ala Leu Val Thr Asp Ser Glu Asn Asn Pro Phe His Glu  
115 120 125

Gly Arg Ile Asp His Leu Gly Val Thr Thr Ser Arg Ser Pro Arg Asp  
130 135 140

Met Leu Phe Asn Asp Pro Glu Gln Gly Ser Glu Ser Phe Phe Tyr Arg  
145 150 155 160

Gln Val Leu Leu Ala Leu Glu Gln Thr Asp Tyr Cys Gln Phe Glu Val  
165 170 175

Gln Phe Glu Leu Thr His Asn Ala Ile His Ser Trp Thr Gly Gly Arg  
180 185 190

Ser Pro Tyr Gly Met Ser Thr Leu Glu Phe Thr Ala Tyr Asp Pro Leu  
195 200 205

Phe Trp Leu His His Ser Asn Thr Asp Arg Ile Trp Ala Val Trp Gln  
210 215 220

Ala Leu Gln Lys Tyr Arg Gly Leu Pro Tyr Asn Glu Ala His Cys Glu  
225 230 235 240

Ile Gln Val Leu Lys Gln Pro Leu Arg Pro Phe Asn Asp Asp Ile Asn  
245 250 255

His Asn Pro Ile Thr Lys Thr Asn Ala Arg Pro Ile Asp Ser Phe Asp  
260 265 270

Tyr Glu Arg Phe Asn Tyr Gln Tyr Asp Thr Leu Ser Phe His Gly Lys  
275 280 285

Ser Ile Pro Glu Leu Asn Asp Leu Leu Glu Glu Arg Lys Arg Glu Glu  
290 295 300

Arg Thr Phe Ala Ala Phe Leu Leu Arg Gly Ile Gly Cys Ser Ala Asp  
305 310 315 320

Val Val Phe Asp Ile Cys Arg Pro Asn Gly Asp Cys Val Phe Ala Gly  
325 330 335

Thr Phe Ala Val Leu Gly Gly Glu Leu Glu Met Pro Trp Ser Phe Asp  
340 345 350

Arg Leu Phe Arg Tyr Asp Ile Thr Arg Val Met Asn Gln Leu His Leu  
355 360 365

Gln Tyr Asp Ser Asp Phe Ser Phe Arg Val Lys Leu Val Ala Thr Asn  
370 375 380

Gly Thr Glu Leu Ser Ser Asp Leu Leu Lys Ser Pro Thr Ile Glu His  
385 390 395 400

lu Leu Gly

<210> 33  
<211> 511  
<212> PRT  
<213> Haliotis tuberculata

<220>  
<221> DOMAIN  
<222> (1)..(511)  
<223> HtH 2 Domäne h

<400> 33  
Ala His Arg Gly Pro Val Glu Glu Thr Glu Val Thr Arg Gln His Thr  
1 5 10 15

Asp Gly Asn Ala His Phe His Arg Lys Glu Val Asp Ser Leu Ser Leu

22.53.00

20

25

30

Asp Glu Ala Asn Asn Leu Lys Asn Ala Leu Tyr Lys Leu Gln Asn Asp  
35 40 45

His Ser Leu Thr Gly Tyr Glu Ala Ile Ser Gly Tyr His Gly Tyr Pro  
50 55 60

Asn Leu Cys Pro Glu Glu Gly Asp Asp Lys Ile Pro Cys Cys Val His  
65 70 75 80

Gly Met Gly Ile Phe Pro Tyr Trp His Arg Leu Leu Thr Ile Gln Leu  
85 90 95

Glu Arg Ala Leu Glu His Asn Gly Ala Leu Leu Gly Val Pro Tyr Trp  
100 105 110

Asp Trp Asn Lys Asp Leu Ser Ser Leu Pro Ala Phe Phe Ser Asp Ser  
115 120 125

Ser Asn Asn Asn Pro Tyr Phe Lys Tyr His Ile Ala Gly Val Gly His  
130 135 140

Asp Thr Val Arg Glu Pro Thr Ser Leu Ile Tyr Asn Gln Pro Gln Ile  
145 150 155 160

His Gly Tyr Asp Tyr Leu Tyr Tyr Leu Ala Leu Thr Thr Leu Glu Glu  
165 170 175

Asn Asn Tyr Cys Asp Phe Glu Val Gln Tyr Glu Ile Leu His Asn Ala  
180 185 190

Val His Ser Trp Leu Gly Gly Ser Gln Lys Tyr Ser Met Ser Thr Leu  
195 200 205

Glu Tyr Ser Ala Phe Asp Pro Val Phe Met Ile Leu His Ser Gly Leu  
210 215 220

Asp Arg Leu Trp Ile Ile Trp Gln Glu Leu Gln Lys Ile Arg Arg Lys  
225 230 235 240

Pro Tyr Asn Phe Ala Lys Cys Ala Tyr His Met Met Glu Glu Pro Leu  
245 250 255

Ala Pro Phe Ser Tyr Pro Ser Ile Asn Gln Asp Glu Phe Thr Arg Ala  
260 265 270

Asn Ser Lys Pro Ser Thr Val Phe Asp Gln His Lys Phe Gly Tyr His  
275 280 285

Tyr Asp Asn Leu Asn Val Arg Gly His Ser Ile Gln Glu Leu Asn Thr  
290 295 300

Ile Ile Asn Asp Leu Arg Asn Thr Asp Arg Ile Tyr Ala Gly Phe Val  
305 310 315 320

Leu Ser Gly Ile Gly Thr Ser Ala Ser Val Lys Ile Tyr Leu Arg Thr  
325 330 335

22.53.00

Asp Asp Asn Asp Glu Glu Val Gly Thr Phe Thr Val Leu Gly Gly Glu  
340 345 350

Arg Glu Met Pro Trp Ala Tyr Glu Arg Val Phe Lys Tyr Asp Ile Thr  
355 360 365

Glu Val Ala Asp Arg Leu Lys Leu Ser Tyr Gly Asp Thr Phe Asn Phe  
370 375 380

Arg Leu Glu Ile Thr Ser Tyr Asp Gly Ser Val Val Asn Lys Ser Leu  
385 390 395 400

Pro Asn Pro Phe Ile Ile Tyr Arg Pro Ala Asn His Asp Tyr Asp Val  
405 410 415

Leu Val Ile Pro Val Gly Arg Asn Leu His Ile Pro Pro Lys Val Val  
420 425 430

Val Lys Lys Gly Thr Arg Ile Glu Phe His Pro Val Asp Asp Ser Val  
435 440 445

Thr Arg Pro Val Val Asp Leu Gly Ser Tyr Thr Ala Leu Phe Asn Cys  
450 455 460

Val Val Pro Pro Phe Thr Tyr His Gly Phe Glu Leu Asn His Val Tyr  
465 470 475 480

Ser Val Lys Pro Gly Asp Tyr Tyr Val Thr Gly Pro Thr Arg Asp Leu  
485 490 495

Cys Gln Asn Ala Asp Val Arg Ile His Ile His Val Glu Asp Glu  
500 505 510

<210> 34  
<211> 210  
<212> PRT  
<213> Megathura crenulata

<220>  
<221> DOMAIN  
<222> (1)..(210)  
<223> partielle KLH 1 Domäne c

<400> 34  
Ala Ser Leu Arg Tyr Thr Ala Phe Asp Pro Leu Phe Tyr Leu His His  
1 5 10 15

Ser Asn Thr Asp Arg Ile Trp Ala Ile Trp Gln Ala Leu Gln Lys Tyr  
20 25 30

Arg Gly Lys Pro Tyr Asn Val Ala Asn Cys Ala Val Thr Ser Met Arg  
35 40 45

Glu Pro Leu Gln Pro Phe Gly Leu Ser Ala Asn Ile Asn Thr Asp His  
50 55 60

Val Thr Lys Glu His Ser Val Pro Phe Asn Val Phe Asp Tyr Lys Thr  
65 70 75 80

Asn Phe Asn Tyr Glu Tyr Asp Thr Leu Glu Phe Asn Gly Leu Ser Ile  
 85 90 95  
 Ser Gln Leu Asn Lys Lys Leu Glu Ala Ile Lys Ser Gln Asp Arg Phe  
 100 105 110  
 Phe Ala Gly Phe Leu Leu Ser Gly Phe Lys Lys Ser Ser Leu Val Lys  
 115 120 125  
 Phe Asn Ile Cys Thr Asp Ser Ser Asn Cys His Pro Ala Gly Glu Phe  
 130 135 140  
 Tyr Leu Leu Gly Asp Glu Asn Glu Met Pro Trp Ala Tyr Asp Arg Val  
 145 150 155 160  
 Phe Lys Tyr Asp Ile Thr Glu Lys Leu His Asp Leu Lys Leu His Ala  
 165 170 175  
 Glu Asp His Phe Tyr Ile Asp Tyr Glu Val Phe Asp Leu Lys Pro Ala  
 180 185 190  
 Ser Leu Gly Lys Asp Leu Phe Lys Gln Pro Ser Val Ile His Glu Pro  
 195 200 205  
 Arg Ile  
 210

<210> 35  
 <211> 411  
 <212> PRT  
 <213> Megathura crenulata

<220>  
 <221> DOMAIN  
 <222> (1)..(411)  
 <223> KLH 1 Domäne d

<400> 35  
 1 5 10 15  
 Arg Ile Arg Lys Asn Ile Glu Asn Leu Ser Leu Gly Glu Leu Glu Ser  
 20 25 30  
 Leu Arg Ala Ala Phe Leu Glu Ile Glu Asn Asp Gly Thr Tyr Glu Ser  
 35 40 45  
 Ile Ala Lys Phe His Gly Ser Pro Gly Leu Cys Gln Leu Asn Gly Asn  
 50 55 60  
 Pro Ile Ser Cys Cys Val His Gly Met Pro Thr Phe Pro His Trp His  
 65 70 75 80  
 Arg Leu Tyr Val Val Val Val Glu Asn Ala Leu Leu Lys Lys Gly Ser  
 85 90 95  
 Ser Val Ala Val Pro Tyr Trp Asp Trp Thr Lys Arg Ile Glu His Leu



100

105

110

Pro His Leu Ile Ser Asp Ala Thr Tyr Tyr Asn Ser Arg Gln His His  
115 120 125

Tyr Glu Thr Asn Pro Phe His His Gly Lys Ile Thr His Glu Asn Glu  
130 135 140

Ile Thr Thr Arg Asp Pro Lys Asp Ser Leu Phe His Ser Asp Tyr Phe  
145 150 155 160

Tyr Glu Gln Val Leu Tyr Ala Leu Glu Gln Asp Asn Phe Cys Asp Phe  
165 170 175

Glu Ile Gln Leu Glu Ile Leu His Asn Ala Leu His Ser Leu Leu Gly  
180 185 190

Gly Lys Gly Lys Tyr Ser Met Ser Asn Leu Asp Tyr Ala Ala Phe Asp  
195 200 205

Pro Val Phe Phe Leu His His Ala Thr Thr Asp Arg Ile Trp Ala Ile  
210 215 220

Trp Gln Asp Leu Gln Arg Phe Arg Lys Arg Pro Tyr Arg Glu Ala Asn  
225 230 235 240

Cys Ala Ile Gln Leu Met His Thr Pro Leu Gln Pro Phe Asp Lys Ser  
245 250 255

Asp Asn Asn Asp Glu Ala Thr Lys Thr His Ala Thr Pro His Asp Gly  
260 265 270

Phe Glu Tyr Gln Asn Ser Phe Gly Tyr Ala Tyr Asp Asn Leu Glu Leu  
275 280 285

Asn His Tyr Ser Ile Pro Gln Leu Asp His Met Leu Gln Glu Arg Lys  
290 295 300

Arg His Asp Arg Val Phe Ala Gly Phe Leu Leu His Asn Ile Gly Thr  
305 310 315 320

Ser Ala Asp Gly His Val Phe Val Cys Leu Pro Thr Gly Glu His Thr  
325 330 335

Lys Asp Cys Ser His Glu Ala Gly Met Phe Ser Ile Leu Gly Gly Gln  
340 345 350

Thr Glu Met Ser Phe Val Phe Asp Arg Leu Tyr Lys Leu Asp Ile Thr  
355 360 365

Lys Ala Leu Lys Lys Asn Gly Val His Leu Gln Gly Asp Phe Asp Leu  
370 375 380

Glu Ile Glu Ile Thr Ala Val Asn Gly Ser His Leu Asp Ser His Val  
385 390 395 400

Ile His Ser Pro Thr Ile Leu Phe Glu Ala Gly  
405 410

<210> 36  
 <211> 80  
 <212> PRT  
 <213> Megathura crenulata

<220>  
 <221> DOMAIN  
 <222> (1)..(80)  
 <223> partielle KLH 1 Domäne e

<400> 36  
 Asp Ser Ala His Thr Asp Asp Gly His Thr Glu Pro Val Met Ile Arg  
           1                  5                  10                  15  
 Lys Asp Ile Thr Gln Leu Asp Lys Arg Gln Gln Leu Ser Leu Val Lys  
                   20                  25                  30  
 Ala Leu Glu Ser Met Lys Ala Asp His Ser Ser Asp Gly Phe Gln Ala  
                   35                  40                  45  
 Ile Ala Ser Phe His Ala Leu Pro Pro Leu Cys Pro Ser Pro Ala Ala  
           50                  55                  60  
 Ser Lys Arg Phe Ala Cys Cys Val His Gly Met Pro Thr Phe Pro Gln  
       65                  70                  75                  80

<210> 37  
 <211> 207  
 <212> PRT  
 <213> Megathura crenulata

<220>  
 <221> DOMAIN  
 <222> (1)..(207)  
 <223> KLH2 Domäne b

<400> 37  
 Leu Arg Tyr Thr Ala Phe Asp Pro Ile Phe Tyr Leu His His Ser Asn  
       1                  5                  10                  15  
 Val Asp Arg Leu Trp Ala Ile Trp Gln Ala Leu Gln Ile Arg Arg Gly  
           20                  25                  30  
 Lys Ser Tyr Lys Ala His Cys Ala Ser Ser Gln Glu Arg Glu Pro Leu  
           35                  40                  45  
 Lys Pro Phe Ala Phe Ser Ser Pro Leu Asn Asn Asn Glu Lys Thr Tyr  
       50                  55                  60  
 His Asn Ser Val Pro Thr Asn Val Tyr Asp Tyr Val Gly Val Leu His  
       65                  70                  75                  80  
 Tyr Arg Tyr Asp Asp Leu Gln Phe Gly Gly Met Thr Met Ser Glu Leu  
           85                  90                  95

Glu Glu Tyr Ile His Lys Gln Thr Gln His Asp Arg Thr Phe Ala Gly  
100 105 110

Phe Phe Leu Ser Tyr Ile Gly Thr Ser Ala Ser Val Asp Ile Phe Ile  
115 120 125

Asn Arg Glu Gly His Asp Lys Tyr Lys Val Gly Ser Phe Val Val Leu  
130 135 140

Gly Gly Ser Lys Glu Met Lys Trp Gly Phe Asp Arg Met Tyr Lys Tyr  
145 150 155 160

Glu Ile Thr Glu Ala Leu Lys Thr Leu Asn Val Ala Val Asp Asp Gly  
165 170 175

Phe Ser Ile Thr Val Glu Ile Thr Asp Val Asp Gly Ser Pro Pro Ser  
180 185 190

Ala Asp Leu Ile Pro Pro Pro Ala Ile Ile Phe Glu Arg Gly His  
195 200 205

<210> 38  
<211> 105  
<212> PRT  
<213> Megathura crenulata

<220>  
<221> DOMAIN  
<222> (1)..(105)  
<223> KLH2 Domäne c

<400> 38  
Ala Asp Ala Lys Asp Phe Gly His Ser Arg Lys Ile Arg Lys Asp Val  
1 5 10 15

Asp Ser Leu Thr Val Glu Glu Gln Thr Ser Leu Arg Arg Ala Met Ala  
20 25 30

Asp Leu Gln Asp Asp Lys Thr Ser Gly Gly Phe Gln Gln Ile Ala Ala  
35 40 45

Phe His Gly Glu Pro Lys Trp Cys Pro Ser Pro Glu Ala Glu Lys Lys  
50 55 60

Phe Ala Cys Cys Val His Gly Met Ala Val Phe Pro His Trp His Arg  
65 70 75 80

Leu Leu Thr Val Gln Gly Glu Asn Ala Leu Arg Lys His Gly Phe Thr  
85 90 95

Gly Gly Leu Pro Tyr Trp Asp Trp Thr  
100 105

## Patentansprüche

1. Nukleinsäure-Molekül, umfassend eine für ein Hämocyanin, eine Hämocyanin-Domäne oder ein funktionelles Fragment davon mit den immunologischen Eigenschaften wenigstens einer Domäne eines Hämocyanins kodierende Nukleinsäuresequenz, wobei die Nukleinsäuresequenz ausgewählt ist aus

(a) der Gruppe der nachfolgend angegebenen DNA-Sequenzen bzw. der ihnen entsprechenden RNA-Sequenzen:

in SEQ ID NO:1 (HtH1 Domäne b),  
SEQ ID NO:2 (HtH1 Domäne c),  
SEQ ID NO:3 (HtH1 Domäne d),  
SEQ ID NO:4 (HtH1 Domäne e),  
SEQ ID NO:5 (HtH1 Domäne f),  
SEQ ID NO:6 (HtH1 Domäne g),  
SEQ ID NO:7 (HtH1 Domäne h),  
SEQ ID NO:8 (partielle HtH2 Domäne b),  
SEQ ID NO:9 (HtH2 Domäne c),  
SEQ ID NO:10 (HtH2 Domäne d),  
SEQ ID NO:11 (HtH2 Domäne e),  
SEQ ID NO:12 (HtH2 Domäne f),  
SEQ ID NO:13 (HtH2 Domäne g),  
SEQ ID NO:14 (HtH2 Domäne h),  
SEQ ID NO:15 (partielle KLH1 Domäne c),  
SEQ ID NO:16 (KLH1 Domäne d),  
SEQ ID NO:17 (partielle KLH1 Domäne e),  
SEQ ID NO:18 (KLH2 Domäne b),  
SEQ ID NO:19 (KLH2 Domäne c),

(b) Nukleinsäuresequenzen, die mit dem Gegenstrang einer Nukleinsäuresequenz nach (a) hybridisieren und für ein Polypeptid kodieren, das die immunologischen Eigenschaften wenigstens einer Domäne eines Hämocyanins aufweist;

- (c) Nukleinsäuresequenzen, die aufgrund des genetischen Codes zu den unter (a) und (b) definierten DNA-Sequenzen degeneriert sind und für ein Polypeptid kodieren, das die immunologischen Eigenschaften wenigstens einer Domäne eines Häemocyanins aufweist;
- (d) Nukleinsäuresequenzen, die mit einer der unter (a) bis (c) angegebenen Nukleinsäuresequenzen hybridisieren und deren Gegenstrang für ein Polypeptid kodiert, das die immunologischen Eigenschaften wenigstens einer Domäne eines Häemocyanins aufweist;
- (e) Nukleinsäuresequenzen, die wenigstens 60 % homolog zu einer der unter (a) angegebenen Nukleinsäuresequenzen sind;
- (f) Varianten der unter (a) bis (d) angegebenen Sequenzen, wobei die Varianten gegenüber den unter (a) bis (d) angegebenen Sequenzen Additionen, Deletionen, Insertionen oder Inversionen aufweisen und für ein Polypeptid kodieren, das die immunologischen Eigenschaften wenigstens einer Domäne von Hämocyanin aufweist; und
- (g) Kombinationen mehrerer der unter (a) bis (f) angegebenen DNA-Sequenzen.

2. Nukleinsäuremolekül gemäß Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß die unter (b) oder (d) angegebene Hybridisierung unter stringenten Bedingungen durchgeführt wird.

3. Nukleinsäuremolekül gemäß Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß das unter (e) angegebene Nukleinsäuremolekül wenigstens 80 % homolog zu einer der unter (a) angegebenen Nukleinsäuresequenzen ist.

4. Nukleinsäuremolekül gemäß Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß das unter (e) angegebene Nukleinsäuremolekül wenigstens 90 % homolog zu einer der unter (a) angegebenen Nukleinsäuresequenzen ist.

5. Nukleinsäuremolekül gemäß Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß das unter (e) angegebene Nukleinsäuremolekül wenigstens 95 % homolog zu einer der unter (a) angegebenen Nukleinsäuresequenzen ist.
6. Nukleinsäuremolekül gemäß einem der Ansprüche 1 bis 5, **dadurch gekennzeichnet**, daß es ein Desoxyribonukleinsäuremolekül ist.
7. Konstrukt, umfassend ein Nukleinsäuremolekül gemäß einem der Ansprüche 1 bis 6.
8. Konstrukt gemäß Anspruch 7, weiterhin umfassend einen zur Expressionskontrolle geeigneten Promotor, wobei die für ein Hämocyanin, eine Hämocyanin-Domäne oder ein funktionelles Fragment davon kodierende Nukleinsäuresequenz unter der Kontrolle des Promotors steht.
9. Konstrukt gemäß Anspruch 7 oder 8, weiterhin umfassend eine für ein Antigen kodierende Nukleinsäuresequenz, die direkt mit der für ein Hämocyanin, eine Hämocyanin-Domäne oder ein funktionelles Fragment davon kodierenden Nukleinsäuresequenz verbunden ist.
10. Konstrukt gemäß Anspruch 9, wobei das Antigen ausgewählt ist aus: Tumorantigenen, Virusantigenen und Antigenen bakterieller oder parasitärer Pathogene.
11. Konstrukt gemäß einem der Ansprüche 7 bis 10, wobei das Konstrukt wenigstens einen Teil eines Vektors enthält, wobei der Vektor ausgewählt ist aus: Bakteriophagen, Adenoviren, Vacciniaviren, Baculoviren, SV40-Virus und Retroviren.
12. Konstrukt gemäß einem der Ansprüche 7 bis 11, wobei das Konstrukt weiterhin eine His-Tag-kodierende Nukleinsäuresequenz umfaßt und die Expression des Konstrukts zur Bildung eines Fusionsproteins mit einem His-Tag führt.

13. Wirtszelle, enthaltend ein Konstrukt gemäß einem der Ansprüche 7 bis 12, wobei die Wirtszelle eine zur Expression des Konstrukts geeignete prokaryontische oder eukaryontische Zelle ist.

14. Wirtszelle gemäß Anspruch 13, **dadurch gekennzeichnet**, daß die prokaryontische Wirtszelle ausgewählt ist aus E. coli und Bacillus subtilis.

15. Wirtszelle gemäß Anspruch 13, **dadurch gekennzeichnet**, daß die eukaryontische Wirtszelle ausgewählt ist aus Hefezellen, Insektenzellen und Säugerzellen, bevorzugt aus CHO-Zellen, COS-Zellen und HeLa-Zellen.

16. Verfahren zum Herstellen eines Hämocyanin-Polypeptides, wobei das Nukleinsäuremolekül gemäß einem der Ansprüche 1 bis 6 und/oder das Konstrukt gemäß einem der Ansprüche 7 bis 12 in einer geeigneten Wirtszelle exprimiert wird und das Protein gegebenenfalls isoliert wird.

17. Verfahren gemäß Anspruch 16, **dadurch gekennzeichnet**, daß das hergestellte Hämocyanin-Polypeptid natürlich oder chemisch modifiziert wird.

18. Verfahren gemäß Anspruch 17, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Modifikation eine Quervernetzung oder eine kovalente Bindung an ein Antigen ist.

19. Verfahren gemäß einem der Ansprüche 16 bis 18, **dadurch gekennzeichnet**, daß die Expression in einer Wirtszelle gemäß einem der Ansprüche 13 bis 15 durchgeführt wird.

20. Hämocyanin-Polypeptid, umfassend eine Aminosäuresequenz, die von einem oder mehreren der Nukleinsäuremoleküle nach einem der Ansprüche 1 bis 6 kodiert wird.

21. Hämocyanin-Polypeptid gemäß Anspruch 20, umfassend wenigstens eine aus der folgenden Gruppe ausgewählte Aminosäuresequenz:

SEQ ID NO:20 (HtH1 Domäne b),

SEQ ID NO:21 (HtH1 Domäne c),  
SEQ ID NO:22 (HtH1 Domäne d),  
SEQ ID NO:23 (HtH1 Domäne e),  
SEQ ID NO:24 (HtH1 Domäne f),  
SEQ ID NO:25 (HtH1 Domäne g),  
SEQ ID NO:26 (HtH1 Domäne h),  
SEQ ID NO:27 (partielle HtH2 Domäne b),  
SEQ ID NO:28 (HtH2 Domäne c),  
SEQ ID NO:29 (HtH2 Domäne d),  
SEQ ID NO:30 (HtH2 Domäne e),  
SEQ ID NO:31 (HtH2 Domäne f),  
SEQ ID NO:32 (HtH2 Domäne g),  
SEQ ID NO:33 (HtH2 Domäne h),  
SEQ ID NO:34 (partielle KLH1 Domäne c),  
SEQ ID NO:35 (KLH1 Domäne d),  
SEQ ID NO:36 (partielle KLH1 Domäne e),  
SEQ ID NO:37 (KLH2 Domäne b),  
SEQ ID NO:38 (KLH2 Domäne c),  
oder ein Fragment einer dieser Sequenzen, das die immunologischen Eigenschaften  
wenigstens einer Domäne eines Hämocyanins aufweist.

22. Rekombinantes Hämocyanin-Polypeptid, erhältlich durch das Verfahren gemäß einem der Ansprüche 16 bis 19 oder Modifikationen davon.

23. Rekombinantes Hämocyanin-Polypeptid gemäß Anspruch 22, **dadurch gekennzeichnet**, daß es die Sequenzen SEQ ID NO: 20, 21, 22, 23, 24, 25, und 26 umfaßt und Hämocyanin 1 aus *Haliotis tuberculata* ist.

24. Rekombinantes Hämocyanin-Polypeptid gemäß Anspruch 22, **dadurch gekennzeichnet**, daß es die Sequenzen SEQ ID NO: 27, 28, 29, 30, 31, 32 und 33 umfaßt und Hämocyanin 2 aus *Haliotis tuberculata* ist.



25. Rekombinantes Hämocyanin-Polypeptid gemäß Anspruch 23, **dadurch gekennzeichnet**, daß es ein scheinbares Molekulargewicht von 370 KDa in SDS-PAGE unter reduzierenden Bedingungen aufweist.

26. Rekombinantes Hämocyanin-Polypeptid gemäß Anspruch 24, **dadurch gekennzeichnet**, daß es ein scheinbares Molekulargewicht von 370 KDa in SDS-PAGE unter reduzierenden Bedingungen aufweist.

27. Rekombinantes Hämocyanin-Polypeptid gemäß Anspruch 21, **dadurch gekennzeichnet**, daß das Hämocyanin-Polypeptid die Sequenzen SEQ ID NO: 34, 35 und 36 umfaßt und KLH1 aus *Megathura crenulata* ist.

28. Rekombinantes Hämocyanin-Polypeptid gemäß Anspruch 21, **dadurch gekennzeichnet**, daß das Hämocyanin-Polypeptid die Sequenzen SEQ ID NO: 37 und 38 umfaßt und KLH2 aus *Megathura crenulata* ist.

29. Rekombinantes Hämocyanin-Polypeptid gemäß einem der Ansprüche 20 bis 28, **dadurch gekennzeichnet**, daß es kovalent an Viren, Virenbestandteile, Bakterien, Bakterienbestandteile, DNA, DNA-Bestandteile, anorganische oder organische Moleküle wie z. B. Kohlenhydrate Peptide und/oder Glykoproteine gebunden ist.

30. Rekombinantes Hämocyanin-Polypeptid gemäß einem der Ansprüche 20 bis 29, **dadurch gekennzeichnet**, daß das Hämocyanin-Polypeptid nicht-glykosyliert ist.

31. Rekombinantes Hämocyanin-Polypeptid gemäß einem der Ansprüche 20 bis 29, **dadurch gekennzeichnet**, daß das Hämocyanin-Polypeptid glykosyliert ist.

32. Pharmazeutische Zusammensetzung, enthaltend ein Nukleinsäuremolekül gemäß einem der Ansprüche 1 bis 6 und/oder ein Konstrukt gemäß einem der Ansprüche 7 bis 12 und physiologisch verträgliche Zusatzmittel.

33. Pharmazeutische Zusammensetzung gemäß Anspruch 32, **dadurch gekennzeichnet**, daß sie zur gentherapeutischen Behandlung von Tumoren verwendet wird.

34. Pharmazeutische Zusammensetzung, enthaltend ein Hämocyanin-Polypeptid nach einem der Ansprüche 20 bis 31 und physiologisch verträgliche Zusatzmittel.

35. Pharmazeutische Zusammensetzung gemäß Anspruch 34, **dadurch gekennzeichnet**, daß sie als Antiparasitenmittel, Antivirumittel oder als Antitumormittel verwendet wird.

36. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 34, **dadurch gekennzeichnet**, daß sie zum Behandeln einer der folgenden Erkrankungen verwendet wird: Schistosomiasis, Bluthochdruck, Oberflächen-Harnblasenkarzinomen, Epithelkarzinomen, Ovarialkarzinom, Mammakarzinom, Bronchialkarzinom und Kolonrektalkarzinom.

37. Pharmazeutische Zusammensetzung nach Anspruch 34, **dadurch gekennzeichnet**, daß sie als Impfstoff verwendet wird.

38. Pharmazeutische Zusammensetzung gemäß Anspruch 34, **dadurch gekennzeichnet**, daß sie zur Kokain-Mißbrauchsvorsorge verwendet wird.

39. Verwendung von Hämocyanin-Polypeptid gemäß einem der Ansprüche 20 bis 31 als Trägerstoff für Arzneimittel.

40. Liposom, umfassend ein Nukleinsäuremolekül gemäß einem der Ansprüche 1 bis 6, ein Konstrukt gemäß einem der Ansprüche 7 bis 12 und/oder ein Hämocyanin-Polypeptid gemäß einem der Ansprüche 20 bis 31.

41. Liposom gemäß Anspruch 40, **dadurch gekennzeichnet**, daß das Liposom weiterhin Zellerkennungsmoleküle umfaßt.

42. Antikörper, erhältlich durch Immunisieren eines Versuchstieres mit dem rekombinanten Hämocyanin-Polypeptid gemäß einem der Ansprüche 20 bis 31.

43. Screening-Verfahren zum Identifizieren von Tumor-spezifischer DNA in einer Zelle umfassend:

- a) das Inkontaktbringen zellulärer DNA und/oder zellulären Proteins mit einer Sonde umfassend die Nukleinsäuresequenz gemäß einem der Ansprüche 1 bis 6 und/oder des Antikörpers gemäß Anspruch 42 und
- b) das Nachweisen der spezifischen Bindung.

44. Screening-Verfahren gemäß Anspruch 43, **dadurch gekennzeichnet**, daß der nachzuweisende Tumor Harnblasenkarzinom, Epithelialkarzinom, Ovarialkarzinom, Mammakarzinom, Bronchialkarzinom oder Kolonrektalkarzinom ist.

## Zusammenfassung

### **Nukleinsäuremolekül, umfassend eine für ein Hämocyanin kodierende Nukleinsäuresequenz**

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Nukleinsäuremolekül, umfassend eine für ein Hämocyanin, eine Hämocyanin-Domäne oder ein Fragment mit den immunologischen Eigenschaften wenigstens einer Domäne von Hämocyanin kodierende Nukleinsäuresequenz.

Weiterhin betrifft die Erfindung Konstrukte, die das Nukleinsäuremolekül und gegebenenfalls einen zur Expressionskontrolle geeigneten Promotor enthalten. In einer bevorzugten Ausführungsform enthält das Konstrukt ferner eine für ein Antigen kodierende Nukleinsäuresequenz. Die Erfindung betrifft außerdem Wirtszellen, die diese Nukleinsäuremoleküle und/oder Konstrukte enthalten. Die Erfindung betrifft ferner die rekombinante Expression der Nukleinsäuremoleküle und/oder Konstrukte in den Wirtszellen. Weiterhin betrifft die Erfindung Hämocyanin, eine Hämocyanin-Domäne, ein Fragment mit den immunologischen Eigenschaften wenigstens einer Domäne von Hämocyanin und Hämocyanin-Fusionsproteine, die von den Nukleinsäuremolekülen und/oder Konstrukten kodiert werden. Die Erfindung betrifft weiterhin pharmazeutische Zusammensetzungen, die die Nukleinsäuremoleküle und/oder Hämocyanin, eine Hämocyanin-Domäne, ein Fragment davon oder ein Fusionsprotein, enthalten. Weiterhin betrifft die Erfindung Liposomen, die die Nukleinsäuremoleküle und/oder Hämocyanin, eine Hämocyanin-Domäne, ein Fragment davon oder ein Fusionsprotein, enthalten. Ferner betrifft die Erfindung Antikörper, die durch Immunisieren eines Versuchstieres mit dem Hämocyanin, einer Hämocyanin-Domäne, einem Fragment davon oder einem Fusionsprotein, erhältlich sind, und deren Verwendung in Screening-Verfahren zum Identifizieren von Tumoren.

22.03.09

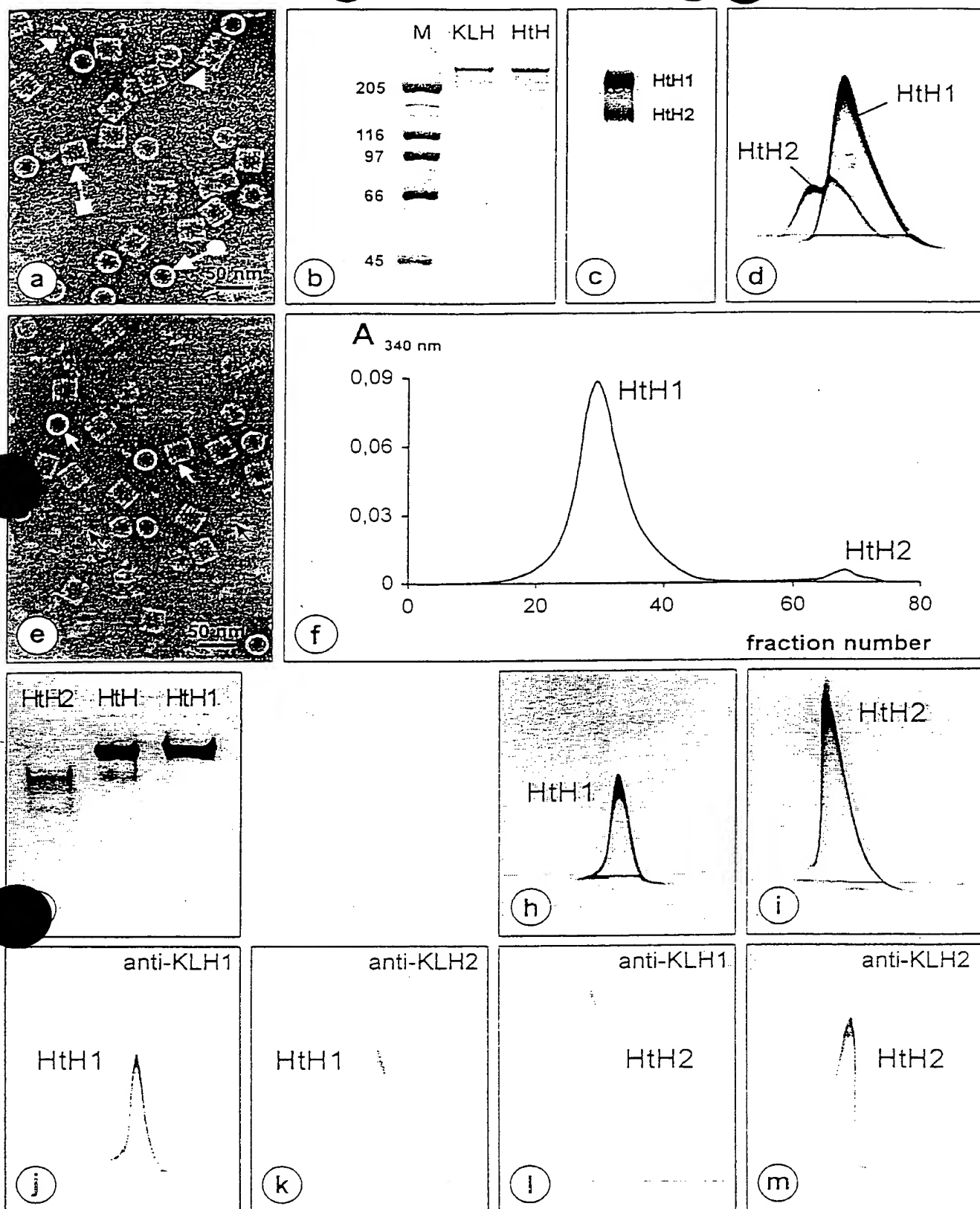


Fig. 1

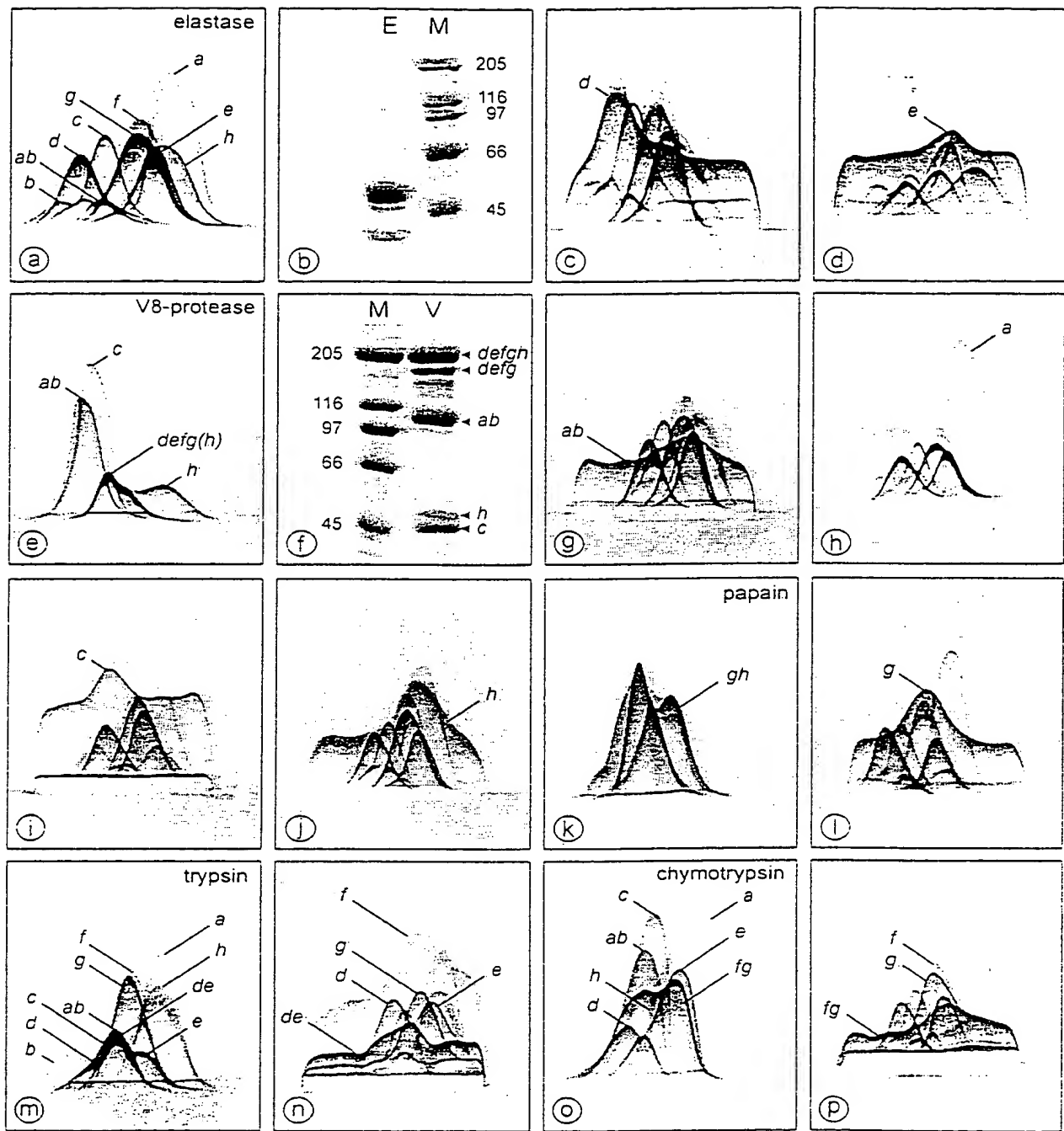


Fig. 2

22.03.00

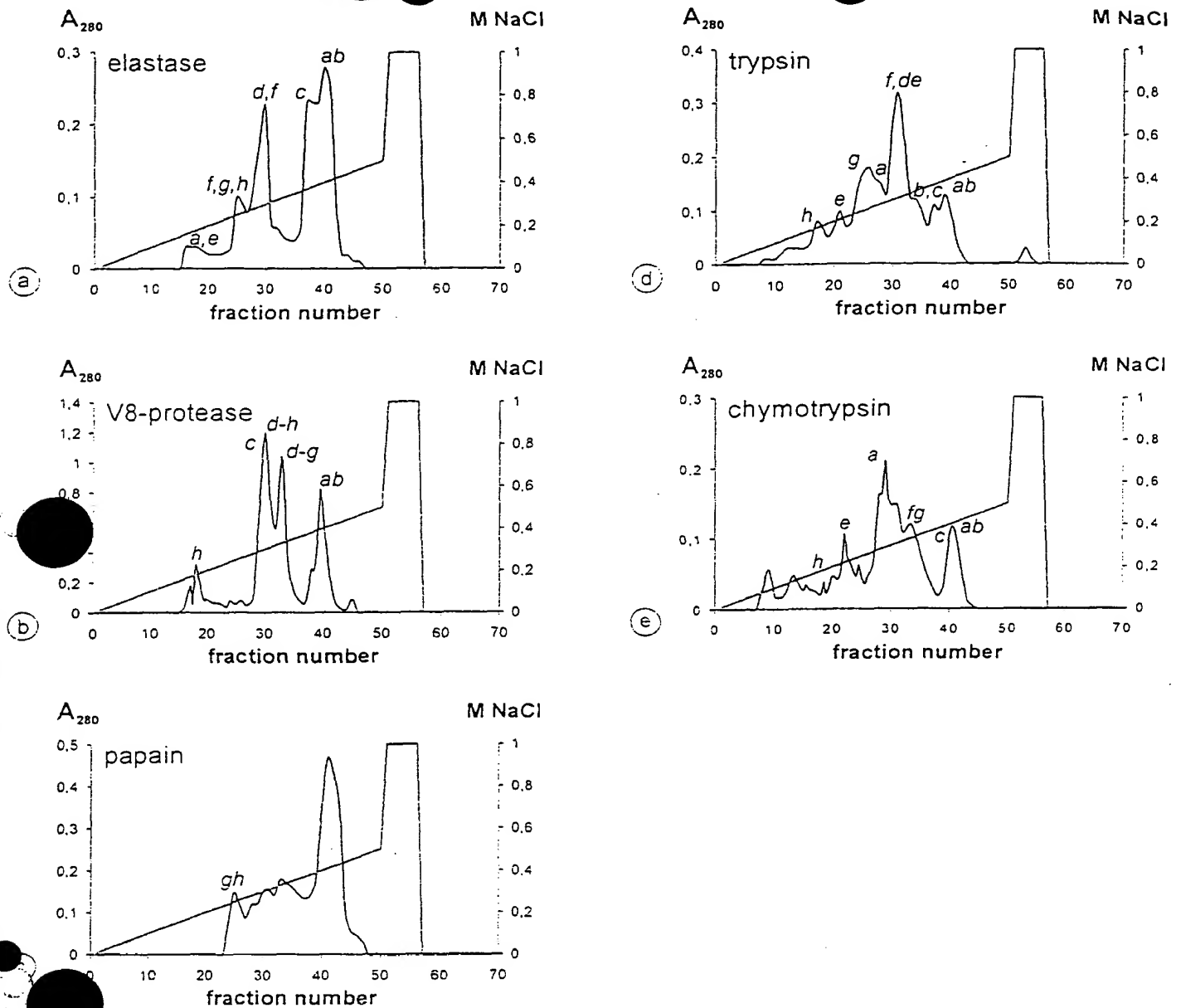


Fig. 3

22.03.00

Figur 4

cDNA-Sequenz in Verbindung mit Intronstruktur des HtH1

Domäne b

AGATCATTGTGACTCGTGAAGAGGAATACGAGCTAAGGATGGCTCTGGAGAGATTCCAGGCCGACA  
CATCCGTTGATGGGTACCAGGCTACAGTAGAGTACCATGGCCTTCCTGCTCGTTGTCCACGACCA  
GATGCAAAAGTCAGGTTTCGCTGTTGTATGCATGGCATGGCATCCTTCCCTCACTGGCACCGGCT  
GTTTCGTTACCCAGGTGGAAGATGCTCTTGACGGCGTGGATCGCCTATCGGTGTTTCTTATTGGG  
ACTGGACAAAACCTATGACTCACCTTCCAGACTTGGCATCAAATGAGACGTACGTAGACCCGTAT  
GGACATACACATCATAATCCATTCTTCAATGCAAATATATCTTTTGAGGAGGGACACCATCACAC  
GAGCAGGATGATAGATTGAAACTGTTTGCCCCAGTAGCTTTTGGGGAGCATTCCCATCTGTTTG  
ATGGAATCCTGTACGCATTTGAGCAGGAAGATTTCTGCGACTTTGAGATTGAGTTGAGTTAGTC  
CATAATTCTATTCATGCGTGGATAGGCGGTTCCGAAGATTACTCCATGGCCACCCTGCATTACAC  
AGCCTTTGACCCCATTTTCTACCTTCATCATTTCCAATGTGCGATCGTCTATGGGCAATCTGGCAAG  
CTCTTCAAATCAGGAGACACAAGCCATATCAAGCCCCTGTGCACAGTCTGTGGAACAGTTGCCA  
ATGAAGCCATTTGCTTTCCCATCACCTCTTAACAACAACGAGAAGACACATAGTCATTGAGTCCC  
GACTGACATTTATGACTACGAGGAAGTGCTGCACTACAGCTACGATGATCTAACGTTTGGTGGGA  
TGAACCTTGAAGAAATTGAAGAAGCTATACATCTCAGACAACAGCATGAACGAGTCTTCGCGGGA  
TTTCTCCTTGCTGGAATAGGAACATCTGCACTTGTTGACATTTTCATAAATAAACCGGGGACCCA  
ACCACTCAAAGCTGGAGATATTGCCATTCTTGGTGCTGCCAAGGAAATGCCTTGGGCGTTTGACC  
GCTTGATATAAGGTCGAAATAACTGACTCATTAAAGACACTTTCCTTGATGTGCGATGGAGATTAT  
GAAGTCACTTTTAAATTCATGATATGCACGGAACGCTCTTGATACGGACCTGATTCCACACGC  
AGCAGTTGTTTCTGAGCCAGCTCACCTACCTTTGAGGATGAAAAGCACAGCTTACGA

Domäne c

ATCAGAAAAATGTGACAGCTTGACTCCTGAAGAAACAAATGAACTGCGTAAAGCCCTGGAGCT  
TCTTGAAAATGATCATACTGTAGGTGGATTCAATCAGCTTGGCGCCTTCCATGGAGAGCCTAAAT  
GGTGGCCTAATCCTGAAGCGGAGCACAAAGGTTGCCTGCTGCGTTTATGGCATGGCCGTTTCCCA  
CATTGGCACAGGCTTCTTGCTCTCCAGGCGGAGAATGCTCTTAGAAAGCATGGGTACAGTGGTGC  
TCTACCATACTGGGATTGGACTCGCCCCCTTCCCAACTTCTGATCTGGTTAGTCATGAGCAGT  
ATACAGATCCTTCCGACCATCACGTGAAGCATAACCCGTGGTTCAATGGCCACATCGATACAGTA  
ATCAGGATACCACCAGAAGCGTACGGGAGGATCTTTATCAACAACCTGAATTTGGACATTTTAC  
GGATATTGCTCAACAAGTCCTCTTAGCATTAGAACAAGATGACTTCTGTTTCGTTTGAAGTGCAGT  
ATGAGATTTCCATAAATTTTATCCATGCACTTGTTAGGAGGAACCGACGCTTATGGCATGGCATCG  
CTGAGATATACAGCATAACGATCCAATCTTTTCTTGATCATTCAAACACCGACAGGATCTGGGC  
TATTTGGCAATCCCTGCAAAAATACAGAGGCAAACCGTACAACACTGCCAAGTGCAGCATAGAAT  
CTATGAGAAGGCCCTGCAACCATTGGAAGTGAAGCAGTGCCATTAAACCTGACAGAATCACCAGA  
GAGCATGCTATCCCGTTTGATGTCTTCAACTATAGAGATAACCTTCATTACGTATATGATACCCT  
GGAATTTAATGGTTTGTGCGATTTCACAACTTGATAGAGAGCTGGAAAAAATCAAGAGTCACGAAA  
GAGTATTTGCTGGATTCTTGCTGTGCGGGGATTAAAAAATCTGCTCTTGTGAAATTCGAAGTTTGT  
ACTCCACCTGATAATTGTATAAAGCAGGGGAGTTTTATCTACTCGGGGACGAAAACGAGATGGC  
TTGGGCCTATGACCGACTTTTCAAGTATGATATTACTCAGGTTCTGGAAGCAAACCATCTACACT  
TCTATGATCATCTCTTCAATTCGCTACGAAGTCTTTGATCTTAAAGGAGTGAGTTTGGGAAGTGC  
CTGTTCCACACTGCAAATGTGGTACATGATTCCGGCACAG



22.03.18

#### Intron c/d

GTACGTGGATTGTGATTACATAGCAATGCTATATGATTTTCTAGTAATTACAACCTCAAGTCATGTAG  
CCGTTTTAGATTGCATTACATCAAACAGCATTGGATTAAATTGGGGGATTGTCCAGGCCGCATTA  
TGTTGCATTCCGAAAATAGTTTGTGTCCAGTGTCCACGTTTAAAATTAAACCATTTTAAATCATAT  
TAGGGATAATTTTAAATAGATGTTATAGTGCTTTATTTTCATATTGTTACAGTGGACAGTCACCAAG  
GACATATTTTACTCTATAGATACACAAACACCAATTAAAACCCTGCTTTGGAAAGTCTAACTTTT  
TCCCCACAG

#### Domäne d

GCACCCGTGATCGTGATAACTACGTTGAAGAAGTTACTGGGGCCAGTCATATCAGGAAGAATTTG  
AACGACCTCAATACCGGAGAAATGGAAAGCCTTAGAGCTGCTTTCTGCATATTACAGGACGACGG  
AACATATGAATCTATTGCCAGTACCATGGCAAACCAGGCAAATGTCAATTGAATGATCATAATA  
TTGCGTGTGTGTCCATGGTATGCCTACCTTCCCCCAGTGGCACAGACTGTATGTGGTTCAGGTG  
GAGAATGCTCTCCTAAACAGGGGATCTGGTGTGGCTGTTCTTACTGGGAGTGGACTGCTCCCAT  
AGACCATCTACCTCATTTTATTGATGATGCAACATACTTCAATTCCCGACAACAGCGGTACGACC  
CTAACCCCTTTCTTCAGGGGAAAGGTTACTTTTGAAAACGCAGTCACAACAAGGGACCCACAAGCC  
GGGCTCTTCAACTCAGATTATATGTATGAGAATGTTTTACTTGCACTGGAGCAGGAAAATTATTG  
TGACTTTGAAATTCAGTTTGAGCTTGTTCATAACGCACCTTCATTCCATGCTGGGAGGTAAAGGGC  
AGTACTCCATGTCCTCCCTGGACTATTCTGCGTTTGATCCCGTCTTCTTCTACATCATGCCAAC  
ACGGACAGACTGTGGGCAATCTGGCAGGAACTACAAAGATTCCGAGAAGTGCCTTATGAAGAAGC  
GAACTGTGCAATCAACCTCATGCATCAACCACTGAAGCCGTTTCAAGTATCCACATGAGAATCAG  
ACAATGTCACTTTGAAATACTCAAAACCACAGGACGGATTGCACTACCAGAACCACTTCGGATAC  
AAGTATGACAACCTTGAGTTCCATCACTTATCCATCCCAAGTCTTGATGCTACCCTGAAGCAAAG  
GAGACATCACGACAGAGTGTGCGGGCTTCTTCTTATAACATAGGAACTTCTGCTGACATAA  
CTATCTACATATGTCTGCCTGACGGACGGCGTGGCAATGACTGCAGTCATGAGGCGGGAACATTC  
TATATCCTCGGAGGCGAAACAGAGATGCCTTTTATCTTTGACCGTTTGTATAAATTTGAAATCAC  
CAAACCACTGCAACAGTTAGGAGTCAAGCTGCATGGTGGAGTTTTCGAACTGGAGCTTGAGATCA  
AGGCATACAACGGTTCCTATCTGGATCCCCATACCTTTGATCCAACATCATCTTTGAACCTGGA  
ACAG

#### Intron d/e

TAATGCCATCTTAATACAGTTCGTTTCGTTAAATTATATATGTTTCGTTTACAACACCATAACCTTG  
AATTGAGGTAAACATCACTTGATATTGATAATGTAATGGTAATTGTTCTTGTGTTGTAAACCGT  
TTCTGGGGTGTGTTTACTATCCACCTGGTGGATAGTGAGTAAACACATTTCGGTTTAAATATGGG  
TATCTAATGGACAGTGAAGTGTGCTGGCTAGGCAGATACCTTGGTTTCTGTGAATGGAGGTAGTA  
GAAAGGGGTTTTGATGATTGCAG

#### Domäne e

ATACCCATATCTTGGAACACGACCATGAGGAAGAGATACTTGTTCAGGAAGAATATAATTGATTTG  
AGCCCAAGGGAGAGGGTTTCTCTAGTCAAAGCTTTGCAAAGAATGAAGAATGATCGCTCCGCTGA  
TGGGTACCAAGCCATTGCCTCTTTCCATGCCCTGCCACCACTCTGTCCCAATCCATCTGCAGCTC  
ACCGTTATGCTTGCTGTGTCCATGGCATGGCTACATTTCCCCAGTGGCACAGACTGTACACTGTT  
CAGGTTTCAAGATGCCCTGAGGAGACATGGTTCACTTGTTGGTATTCTTACTGGGACTGGACAAA  
ACCAGTCAACGAGTTACCCGAGCTTCTTTCTTCAGCAACATTTTATCATCCAATCCGGAATATTA  
ATATTTCAAATCCATTCTCGGGGCTGACATAGAATTTGAAGGACCGGGCGTTTATACAGAGAGG  
CACATAAATACTGAGCGCCTGTTTTCAGAGTGGGGATCATGACGGATACCACAACCTGGTTCTTCGA  
AACTGTTCTCTTTGCTTTGGAACAGGAAGATTACTGCGATTTTGAAATACAATTTGAGATAGCCC

22.03.00

ATAATGGCATCCACAGTGGATTGGTGGGAAGCGCAGTACATGGGTTGGGACACCTTCACTATGCA  
TCATATGATCCAATTTTCTACATCCACCATTACAGACGGACAGAATATGGGCTATTTGGCAAGA  
GCTGCAGAAGTACAGGGGTCTATCTGGGTCCGAAGCAAACCTGTGCCATTGAACATATGAGAACAC  
CCTTGAAGCCTTTTAGCTTTGGGCCACCCTACAATTTGAATAGTCATACGCAAGAATATTCAAAG  
CCTGAGGACACGTTTGACTIONATAAGAAGTTTGGATACAGATATGATAGTCTGGAATTGGAGGGGCG  
ATCAATTTCTCGCATTGATGAACTTATCCAGCAGAGACAGGAGAAAGACAGAACTTTTGCAGGGT  
TCCTCCTTAAAGGTTTGGTACATCCGCATCTGTGTATTGCAAGTTTGCAGAGTTGATCACACC  
TGTAAGATGCGGGCTATTTCACTATTCTGGGAGGATCAGCCGAAATGCCATGGGCGTTTCGACAG  
GCTTTATAAGTATGACATTACTAAAACCTCTTCACGACATGAACCTGAGGCACGAGGACACCTTCT  
CTATAGATGTAACCTATCACGTCTTACAATGGAACAGTACTCTCGGGAGACCTCATCCAGACGCCC  
TCCATTATATTTGTACCTGGACGCC

#### Intron e/f

GTGAGTACCTGTTTGCACCTAAGACTTCTGTAGGCTAAAAGTGTAAAGAAATATCAATTAATTTCAA  
TTCACCCAAACTTGAAAACGGTACCTATATAGGTTAACTTTTGTCTACAGTAACTGAACATAC  
CTACACATTTTCATGAAATGATCTCTCAATATTTTCCACCAACAG

#### Domäne f

ATAAACTCAACTCACGGAAACATACACCTAACAGAGTCCGCCATGAGCTAAGTAGCCTTAGTTCC  
CGTGACATAGCAAGCTTGAAGGCAGCTTTGACAAGCCTTCAACATGATAATGGGACTGATGGTTA  
TCAAGCTATTGCTGCCTTCCATGGCGTTTCTGCGCAGTGCCACGAGCCATCTGGACGTGAG

#### Intron f

GTAAATTTACAGAGCTTTATGAAGTGTGTTTCAGAGTGAAGAGACCAAGATATACTTATACCCAAA  
ACTAGETAGCAACAGACGATTTCACCTTGTTCGGACACTTTGTATTATACGTTGGATCCCAAGGT  
AAACGGAAACGTAACCGAGAATCAGTCCGTAAAGTGAGTGAGTGAGTTTGGGGCTTAACGTGCGA  
CTCAGCAATACCCCAGCTATGTGGCGACTCTCAGATTTACTGCTGGAGGAGAACCTACATAGCCC  
GGTTTAACCCGTGTGGTATGTAGTAAGACCAGCGCGGCATGGCTGGTATCTGACGGACGAAGGGT  
GGCGCTGCACGTATTCAGTGGTACAACACTGCACCCCAATTTACCGACCCGAGAACTGATCTC  
CCCTTCGGAGATATCGCCTGCCTTCCACGGGATTTCGAACTCGGTGACCTTCAAGCCAGCGCGCTT  
TAGCGGGGGCGATTAGAGGTTNAAGGCCGACGGCTCTACCACCTTAACCTATCCCCCGGCCCCAC  
CCCTGACGGAAATGTTTATAATTACGCCTTTGTTTTCTTATTAAACACTCTTGGCAGATTTTCTA  
TAGATAATGGATTACATGTAGACAGTCTCCCATTTGTTGTAACCTGGTAGTCAAGAGTTAGAATCT  
GAATACATTCTCCAAGATGGATCAAGGAAAAAATAATTACTTGATGTTGCAG

ATCGCCTGTTGCATCCACGGCATGGCGACGTTTCTCTACTGGCACCGGTTGTACACTCTGCAGTT  
GGAGCAAGCGCTGCGCAGACACGGGTCCAGTGTTGCTGTTCCATACTGGGACTGGACCAAGCCAA  
TCACCGAACTGCCACACATTCTGACAGACGGAGAATATTATGACGTTTGGCAAAATGCCGTCTTG  
GCCAATCCGTTTGAAGAGGTTATGTGAAAATTAAGATGCATTTACGGTGAGAAATGTCCAGGA  
AAGTCTGTTCAAAATGTCAAGTTTTTGAAAGCACTCGCTTCTGTTTGACCAGGCTTTGTTGGCTC  
TTGAACAACTGACTACTGTGACTTCGAAGTTCAGTTTGAAGTGATGCATAACACGATCCATTAT  
CTCGTAGGAGGGCGTCAAACGTACGCCTTCTCCTCTCTCGAGTATTCTCTCATACGATCCAATCTT  
CTTTATTACCACTCGTTTGTGACAAAATATGGGCTGTATGGCAAGAACTGCAAAGCAGGAGAC  
ATCTACAGTTTGAACAGCTGATTGTGCTGTGGGCTCATGGGTGAGGCAATGAGGCCTTTCAAC  
AAGGATTTCAACCACAACCTCGTTCACCAAGAAGCACGCAGTCCCTAATACAGTATTTGATTATGA  
AGATCTTGGCTATAACTATGACAACCTTGAAATCAGTGGTTTAACTTAAATGAGATCGAGGCGT  
TAATAGCAAAACGCAAGTCACATGCTAGAGTCTTTGCTGGGTTCTGTTGTTTGGATTAGGAACT  
TCGGCTGATATACATCTGGAAATTTGCAAGACATCGGAAACTGCCATGATGCTGGTGTGATTTT

22.03.08

CATCCTTGGAGGTTCTGCAGAGATGCATTGGGCATACAACCGCCTCTACAAGTATGACATTACAG  
AAGCATTGCAGGAATTTGACATCAACCCTGAAGATGTTTTCCATGCTGATGAACCATTTTTCTG  
AGGCTGTCGGTTGTTGCTGTGAATGGAAGTGTCAATCCATCGTCTCATCTTCACCAGCCAACGAT  
AATCTATGAACCAGGCGAAG

Intron f/g

GTGAGATATATGCAAATTGAATGTTGTCCAGATGCGTTGTTTACATTTATATGCTTGGAATTGTC  
CTGAACGAATACAGTGGAATAACCAAAGCTGAAAAATAAAAAGATATATACTTCATTCTGAATT  
TGTCAGTATTGCTGACCCAAAAACACGTTATCCATGTGACACTATATTTGCCTTTCTGAATCTG  
AGACTGCGTTATGTTTCTAATAATCACGAAATATGGTATACAGGTTGTGTATCTGTAGAATACCC  
AAGGCAGAATTTAAAGGGTCACACCCTGTTTAATACAG

Domäne g

ATCACCATGACGACCATCAGTCGGGAAGCATAGCAGGATCCGGGGTCCGCAAGGACGTGAACACC  
TTGACTAAGGCTGAGACCGACAACCTGAGGGAGGCGCTGTGGGGTGTGATGGCAGACCACGGTCC  
CAATGGCTTTCAAGCTATTGCTGCTTTCCATGGAAAACAGCTTTGTGTCCCATGCCTGATGGCC  
ACAACACTCATGTTGTACTCACGGCATGGCTACCTTCCCACACTGGCATGCCTCTACACCAAG  
CAGATGGAGGATGCAATGAGGGCGCATGGGTCTCATGTGGCCTGCCCTACTGGGACTGGACTGC  
TGCCTTCACCCACCTGCCAACACTGGTCACCGACACGGACAACAACCCCTTTCAACATGGACACA  
TTGATTATCTCAATGTCAGCACAACTCGATCTCCCCGAGACATGCTGTTCAACGACCCCGAGCAT  
GGATCAGAGTCGTTCTTCTACAGACAAGTCCTCTTAGCTCTGGAACAACTGATTTCTGCAAATT  
CGAAGTTCAGTTTGAGATAACCCACAATGCCATCCATTCTGGACAGGTGGCCACAGCCCCTACG  
GAATGTCCACTCTCGACTTCACTGCCTACGATCCTCTCTTCTGGCTTCACCACTCCAACACCGAC  
AGAATCTGGGCTGTCTGGCAAGCTTTGCAAGAATACAGAGGACTTCCATACAACCATGCCAATTG  
TGAGATCCAGGCAATGAAAACGCCCTGAGGCCTTTAGTGACGATATCAACCACAACCCAGTCA  
CAAAGGCTAACGCGAAGCCATTAGATGTGTTGAGTATAATCGGTTGAGCTTCCAGTACGACAAC  
CTCATCTTCCATGGATACAGTATTCGGGAACCTGATCGCGTGCTTGAAGAAAGAAAGGAGGAGGA  
CAGAATATTTGCTGCCTTCCTTCTCAGTGGAATCAAGCGTAGTGCTGATGTAGTGTTTCGACATAT  
GCCAGCCAGGACACGAATGTGTGTTTCGAGGGACTTTTGCGATTTTGGGAGGGGAGCTAGAAATG  
CCCTGGTCCTTTGACAGACTGTTCCGCTATGACATCACCAAGGTGATGAAGCAGCTACACCTGAG  
GCATGACTCGGACTTTACGTTTCAGGGTGAAGATTGTGGGCACTGACGACCACGAGCTTCCTTCG  
ACAGTGTCAAAGCACCAACTATTGAATTTGAACCTGGCG

Intron g/h

Domäne h

TGCACAGAGGCGGGAAGCACGAAGATGAACACCATGATGACAGACTCGCAGATGTCCTGATAAGG  
AAAGAAGTTGACTTCCTCTCCCTGCAAGAGGCCAACGCAATTAAGGATGCACTGTACAAGCTCCA  
GAATGACGACAGTAAAGGCGGCTTTGAGGCCATAGCTGGCTATCACGGGTATCCTAATATGTGTC  
CAGAAAGAGGTACCGACAAGTATCCCTGCTGCGTCCACGGAATGCCCGTGTTCCCCCACTGGCAT  
CGCCTGCACACCATTGAGATGGAGAGAGCTCTGAAAAACCATGGCTCTCCAATGGGTATTCCTTA  
CTGGGATTGGACAAAGAAGATGTGAGTCTTCCATCTTTCTTTGGAGATTCCAGCAACAACAACC  
CCTTCTACAAATATTACATCCGGGGCGTGAGCACGAAACAACCAGGGACGTTAATCAGAGACTC  
TTTAATCAAACCAAGTTTGGTGAATTTGATTACCTATATTACCTAACTCTGCAAGTCCTGGAGGA  
AACTCATACTGTGACTTTGAAGTTCAGTATGAGATCCTCCATAACGCCGTCCACTCCTGGCTTG  
GAGGAAGTGGACAGTATTCCATGTCTACCCTGGAGTATTCAGCCTTCGACCCTGTCTTCATGATT  
CACCCTCGAGTTGGATAGAATCTGGATCCTTTGGCAGAAGTTGCAAAGATAAGAATGAAGCC

22.03.00

TTACTACGCATTGGAATTTGGCGACAGACTTATGAAAGACATCCCTTCAACTACG  
AAACCGTTAATGAAGATGAATTCACCCGCATCAACTCTTTCCCAAGCATACTGTTTGACCACTAC  
AGGTTCAACTATGAATACGATAACATGAGAATCAGGGGTCAGGACATACATGAACTTGAAGAGGT  
AATTCAGGAATTAAGAAACAAAGATCGCATATTTGCTGGTTTTGTTTTGTCTGGGCTTACGGATAT  
CAGCTACAGTGAAAGTATTCATTCATTCGAAAAACGATACAAGTCACGAAGAATATGCAGGAGAA  
TTTGCAGTTTTTGGGAGGTGAGAAGGAGATGCCGTGGGCATATGAAAGAATGCTGAAATTGGACAT  
CTCCGATGCTGTACACAAGCTTCACGTGAAAGATGAAGACATCCGTTTTAGAGTGGTTGTTACTG  
CCTACAACGGTGACGTTGTTACCACCAGGCTGTCTCAGCCATTTCATCGTCCACCGTCCAGCCCAT  
GTGGCTCACGACATCTTGGTAATCCCAGTAGGTGCGGGCCATGACCTTCCGCCTAAAGTCGTAGT  
AAAGAGCGGCACCAAAGTCGAGTTTACACCAATAGATTTCGTGCGTGAACAAAGCAATGGTGGAGC  
TGGGCAGCTATACTGCTATGGCTAAATGCATCGTTCCCCCCTTTCTCTTACCACGGCTTTGAACTG  
GACAAAGTCTACAGCGTCGATCACGGAGACTACTACATTGCTGCAGGTACCCACGCGTTGTGTGA  
GCAGAACCTCAGGCTCCACATCCACGTGGAACACGAGTAG

3'UTR

TTCACAG

Intron 3'UTR

GTGAGGAGAAGGCCCCAGGCTAGCAGGGCAATGGATGAAGGAAATAGGGGCAAAGGGAATAGCAG  
TTACACCATCGACATTTCCAACCTCCTCAGAACTAATATATAGCCTTAATACAACCAGCCAAGA  
CTCAACGGGCAGCCGGGGTGGGGGGATTGTTGGTGGTGCCTGTTTCAGACCAGGGTGCAAATATCA  
GTGCGCAAATCAACATGTTGCGTGTGACACACTGACACAGCAGTCATTGAACCTGCAGACCCATA  
ACAGGAAAATGGGGCAGATACGATCAAAGACAGTGTAATAAGGGATAAGTAGGCATATGCAACC  
ACCTGATGGAAATGAAAAGGGGTAAGTTTAAACCCCGGCTACCAAAGGTCCAATGGTTCCTTAAC  
CCAGCTTACGCTATCCCTCTAATTTTCAAGTATTGAGCTGATTTCTGTGAGTTTCATGTAAACTGTA  
TACTTTCTGTATTATTACAG

3'UTR

GTTGCTATGCCGACTGCGCTATATTGGTGAACGAGACGATGAGGACATCTCTGAAAGAGTTCGCC  
AAGTGATGTGTAGGTACGGAAGTATTGTTGAGCTAACAATATGATGATTTCAAATGACTTGGC  
CTCTAGGACAAAGACATAATTTCATCAGCACCCCTGTGCACCAACTCTTTGTTTGCTGCAAACGTC  
GACAAGCGACACGTCAATCAACAAGCTGTTCAAACCTCAAGTGGATGTAAGTGAATCGTTGGGC  
CATCGTTCACAAAGTATTGACAGATGTCACACATGATGGCGAGAAACACTTTAGAACTTTTAATG  
ACCTAGAGTGACTTGTAATATGTAAATATATTCTTCAAAGACTCAGCTGAACTATTGTTGGATA  
ACACATCAATTCCCTCAACAAAATGCTTTATCTTCACATGGATGTATGTAATGTGGCCGGCAATA  
AAGTATATATATGTATAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

22.03.00

Figur 5

Abgeleitete Primärstruktur des HtH1

DHLTREEEYELRMALERFQADTSVDGYQATVEYHGLPARCPRPDAKVRFACCMHGMA SFPHWHRL  
FVTQVEDALVRRGSPIGVPYWDWTKPMTHLPDLASNETYVDPYGHTHHNPFFNANISFEEGHHHT  
SRMIDSKLFAPVAFGEHSHLFDGILYA FEQEDFCDFEI QFELVHNSIHAWIGGSE DYSMATLHYT  
AFDPIFYLLHHSNVDRLWAIWQALQIRRHKPYQAHCAQSVEQLPMKPFAFPSP LNNNEKTHSHSVP  
TDIYDYEEVLHYSYDDLTFGGMNLEEEIEAHLRQQHERVFAGFLLAGIGTSALVDIFINKPGTQ  
PLKAGDIAILGGAKEMPWAFDRLYKVEITDSLKTLSLDVDGDYEVTFKIHD MHGNALD TDLIPHA  
AVVSEPAHPTFEDEKHS L

RIRKNVDSLTP EETNELRKALELLENDHTVGGFNQLGAFHGEPKWCPNPEAEHKVACCVHGM AVF  
PHWHRL LALQAENALRKHGYSGALPYWDWTRPLSQLPDLVSHEQYTDPSDHHVKHNPWFNGHIDT  
VNQDTRSVREDLYQQPEFGHFTDIAQQVLLALEQDDFCSEVQYEI SHNFIHALVGCTDAYGMA  
SLRYTAYDPIFFLHHSNTDRIWAIWQSLQKYRGKPYNTANCAIESMRRLQPFGLSSAINPDRI T  
REHAIPFDVFNRYRDNLHYVYDTLEFNGLSISQLDRELEKIKSHERVFAGFLLSGIKKSALVKFEV  
CTPPDNCHKAGEFYLLGDENEMAWAYDRLFKYDITQVLEANHLHFYDHLFIRYEVFDLKGVS LGT  
DLFHTANVVHDSGT

GTRDRDNYVEEVTGASHIRKNLNDLNTGEMESLRAAFLHIQDDGTYESIAQYHGKPGKQCQLNDHN  
IACCVHGMPTFPQWHRLYVQVENALLNRGSGVAVPYWEWTAPIDHLPHFIDDATYFNSRQQRYD  
PNPFFRGKVT FENAVTTRDPQAGLFNSDYMYENVLLALEQENYCDFEIQFELVHNALHSM LGGKG  
QYSMSSLDYSAFDPVFFLHHANTDRLWAIWQELQRFREL PYEEANCAINLMHQPLKPFSDPHENH  
DNVTLYKSKPQDGFYQNHFGYKYDNLEFHHL SIPS LDATLQRRHHD RVFAGFLLHNIGTSADI  
TIYICLPDGRRGNDCSHEAGTFYILGGETEMPFI FDRLYKFEITKPLQQLGVKLHGGVFELELEI  
KAYNGSYLDPHTFDPTIIFEPGT

DTHILDHDHEEEILVRKNIIDLSPRERVSLVKALQRMKNDRSADGYQAIASFHALPPLCPNPSAA  
HRYACCVHGMATFPQWHRLYTVQVQDALRRHGSLVGIPYWDWTKPVNELPELLSSATFYHPIRNI  
NISNPF LGADIEFEGPGVHTERHINTERLFHSGDHDGYHNWFFETVLFAL EQEDYCDFEIQFEIA  
HNGIHTWIGGSAVHGMGHLHYASYDPIFYIHHSQTDRIWAIWQELQKYRGLSGSEANCAIEHMRT  
PLKPFSGPPYNLNSHTQEYSKPEDTFDYKKFGYRYSLELEGRSISRIDELIQQRQEKDRTFAG  
FLLKGFGTSASVSLQVCRVDHTCKDAGYFTILGGS AEMPWAFDRLYKYDITKTLHDMNLRHEDTF  
SIDVTITSYNGTVLSGDLIQTPSII FVPGR

KLNSRKHTPNRVRHELSSSLSSRDIA SLKAALTSLQHDNGTDGYQAI AAFHGVP AQCHEPSGREI  
ACCIHGMATFPHWHRLYTLQLEQALRRHGSSVAVPYWDWTKPITELPHILTDGEYYDVWQNAVLA  
NPFARGYVKIKDAFTVRNVQESLFKMSSFGKHSLLFDQALLALEQTDYCDFEVQFEVMHNTIHYL  
VGGRTYAFSSLEYSSYDPIFFIHHSFVDKIWAVWQELQSRRLQFRTADCAVGLMGQAMRPFNK  
DFNHNSFTKKHAVPNTVFDYEDLGYNYNLEISGLNLNEIEALIAKRKSHARVFAGFLLFGLGTS  
ADIHLEICKTSENCHDAGVIFILGGS AEMHWAYNRLYKYDITEALQEFDINPEDVFHADEPFFLR  
LSVVAVNGTVIPSSHLHQPTIIEPGE

DHDDHQSGS IAGSGVRKDVNTLTKAETDNLREALWGVMADHGPNGFQAI AAFHGKPALCPMPDG  
HNYSCCTHGMATFPHWHRLYTKQMEDAMRAHGSHVGLPYWDWTA AFTHLPTLVTD TDDNNPFQHG  
IDYLVNSTTRSPRDMLFNDPEHGSESFYRQVLLALEQTD FCKFEVQFEITHNAIHSWTGGHSPY  
GMSTLDFTAYDPLFWLHHSNTDRIWAVWQALQEYRGLPYNHANCEIQAMKTPLRPFSDDINHNPV  
TKANAKPLDVFEYNRLSFQYDNLI FHGYSIPELDRVLEERKEEDRIFAAFLLSG IKRSADVVDI  
CQPGHECVFAGTFAILGGELEMPWSFDR LFRYDITKVMKQLHLRHSDFTFRVKIVGTDDHELPS  
DSVKAPTIEFEPG

22.03.00

VHRGGKHEDEHHDDR...VHRKEVDFLSLQEANAIDALYKL...DDSRGGFEAIAGYHGYPNMC  
PERGTDKYPCCVHGMVPVFPWHRLHTIQMERALKNHGSPMGIPYWDWTKKMSSLPSFFGDSSNNN  
PFYKYYIRGVQHETTRDVNQRLFNQTKFGEFDYLYLTLQVLEENSYCDFEVQYEILHNAVHSWL  
GGTGQYSMSTLEYSAFDPVFMHHSSLDRIWILWQKLQKIRMKPYYALDCAGDRLMKDPLHPFNY  
ETVNEDEFTRINSFPSILFDHYRFNYEYDNMRIRGQDIHELEEVIQELRNKDRI FAGFVLSGLRI  
SATVKVFIHKNDSHEEYAGEFAVLGGEKEMPWAYERMLKLDISDAVHKLHVKDEDIRFRVVVT  
AYNGDVVTTRLSQPFIVHRPAHVAHDILVIPVGAGHDLPKVVVKSGTKVEFTPIDSSVNKAMVE  
LGSYTAMAKCIVPPFSYHGFELDKVYSVDHGDYYIAAGTHALCEQNLRLHIHVEHE

22.03.00

Figur 6

cDNA-Sequenz in Verbindung mit Intronstruktur des Hth2

Domäne b

GTTTCTTTCTGTCACATATTGGTACATCAGCGAATGTTGAAATCATTATAGACCATGGGACTCTT  
CATACCTCCGTGGGCACGTTTGTCTGTTCTTGGCGGAGAGAAGGAGATGAAATGGGGATTTGACCG  
TTTGTACAAATATGAGATTACAGATGAACTGAGGCAACTTAATCTCCGTGCTGATGATGTTTTCA  
GCATCTCTGTTAAAGTAACTGATGTTGATGGCAGTGAGCTGTCCTCTGAACTCATCCCATCTGCT  
GCTATCATCTTCGAACGAAGCCATATTGACCATCAGGACCCGCATCATGACACAATC

Intron b/c

Domäne c

ATTAGGAAAAATGTTGATAATCTTACACCCGAGGAAATTAATTCTCTGAGGCGGGCAATGGCAGA  
CCTTCAATCAGACAAAACCGCCGGTGGATTCCAGCAAATTGCTGCTTTTCACGGGGAACCCAAAT  
GGTGCCCAAGTCCCGATGCTGAGAAGAAGTTCTCCTGCTGTGTCCATGGAATGGCTGTCTTCCCT  
CACTGGCACAGACTCCTGACCGTGCAAGGCGAGAATGCCCTGAGAAAGCATGGATGTCTCGGAGC  
TCTCCCCTACTGGGACTGGACTCGGCCCTGTCTCACCTACCTGATTTGGTTTTGGTAAGTAGCA  
GAACTACACCGATGCCATATTCCACCGTGGAAGCCCGAAACCCCTGGTACAGCGGCCATATTGAT  
ACAGTTGGTGTTGACACAACAAGAAGCGTCCGTCAAGAACTGTATGAAGCTCCTGGATTTGGCCA  
TTATACTGGGGTTCGCTAAGCAAGTGCTTCTGGCTTTGGAGCAGGATGACTTCTGTGATTTTGAAG  
TCCAGTTTGAGATAGCTCACAATTTCAATCACGCTCTTGTGGCGGAAGCGAGCCATATGGTATG  
GCGTCACTCCGTTACACTACTTATGATCCAATTTTCTACCTCCATCATCTAACACTGACAGACT  
CTGGGCTATATGGCAGGCTCTACAAAAGTACAGGGGCAAACCTTACAATTCCGCCAACTGCGCCA  
TTGCTTCTATGAGAAAACCCCTACAACCCTTTGGTCTGAETGATGAGATCAACCCGGATGATGAG  
ACAAGACAGCATGCTGTTCTTTTCAGTGTCTTTGATTACAAGAACAACCTTCAATTATGAATATGA  
CACCTTGACTTCAACGGACTATCAATCTCCCAGCTGGACCGTGAAGTGTACGGAGAAAGTCTC  
ATGACAGAGTATTTGCCGGATTTTGTGCTGCATGGTATTGAGCAGTCTGCACTAGTTAAATTCTTT  
GTCTGCAAATCAGATGATGACTGTGACCACTATGCTGGTGAATTCTACATCCTTGGTGATGAAGC  
TGAAATGCCATGGGGCTATGATCGTCTTTACAAATATGAGATCACTGAGCAGCTCAATGCCCTGG  
ATCTACACATCGGAGATAGATTCTTCATCAGATACGAAGCGTTTGATCTTCATGGTACAAGTCTT  
GAAGCAACATCTTCCCCAAACCTTCTGTCATACATGACGAAGGGGCAG

Intron c/d

GTGAGAACATTGATAATAGTTCAAATGAAGTATATCCGATTCAAGCTGTCGATACAAGATGAGAT  
ACATAATCACAATGTTTGTATTAGATATCTCTCTTAATTTAATGCCGCTTTTATCAATATTCGAG  
CAATCCTTCAGCAACATACACCAGCAAATGTTTCATCAACAGACTATATTATTTAATCTTTTAAA  
AATCCTTTTCTGTTGTTATAAATACTTAAAGTATCGAATTCCTTGAATGCGTCTTCTCTGCAGCA  
TATAGTTAAGTTGTTGTGTTTCTCTGTGAC

Domäne d

GTCACCATCAGGCTGACGAGTACGACGAAGTTGTAAGTCTGCAAGCCACATCAGAAAGAATTTA  
AAAGATCTGTCAAAGGGAGAAGTAGAGAGCCTAAGGTCTGCCTTCCCTGCAACTTCAGAACGACGG  
AGTCTATGAGAATATTGCCAAGTTCCACGGCAAGCCTGGGTGTTGTGTGATGATAACGGTCGCAAGG  
TTGCCTGTTGTGTCCATGGAATGCCCACCTTCCCCAGTGGCACAGGCTCTATGTCCTCCAGGTG

GAGAATGCTTTGCTGACAGGATCTGCCGTCTCTGTGCCATCTGCACTGGACTGAAACATT  
TACAGAGCTGCCATCTTTGATTGCTGAGGCTACCTATTTCAATTCCCGTCAACAAACGTTTGACC  
CTAATCCTTTCTTCAGAGGTAAAATCAGTTTTGAGAATGCTGTTACAACACGTGATCCCCAGCCT  
GAGCTGTACGTTAACAGGTACTACTACCAAAACGTCATGTTGGTTTTTGAACAGGACAACACTACTG  
CGACTTCGAGATACAGTTTGAGATGGTTCACAATGTTCTCCATGCTTGGCTTGGTGGAAGAGCTA  
CTTATTCTATTTCTTCTCTTGATTATTCTGCATTTCGACCCTGTGTTTTTCTTCCACCATGCGAAC  
ACAGATAGATTGTGGGCCATCTGGCAGGAGCTGCAGAGGTACAGGAAGAAGCCATACAATGAAGC  
GGATTGTGCCATTAACCTAATGCGCAAACCTCTACATCCCTTCGACAACAGTGATCTCAATCATG  
ATCCTGTAACCTTTAAATACTCAAAACCCACTGATGGCTTTGACTACCAGAACAACTTTGGATAC  
AAGTATGACAACCTTGAGTTCAATCATTTTCAGTATTTCCAGGCTTGAAGAAATCATTTCGTATTAG  
ACAACGTCAAGATCGTGTGTTTGCAGGATTCTCTCTTCACAACATTGGGACATCCGCAACTGTTG  
AGATATTCGTCTGTGTCCCTACCACCAGCGGTGAGCAAACTGTGAAAACAAAGCCGGAACATTT  
GCCGTACTCGGAGGAGAAACAGAGATGGCGTTTCATTTTGACAGACTCTACAGGTTTGACATCAG  
TGAAACACTGAGGGACCTCGGCATACAGCTGGACAGCCATGACTTTGACCTCAGCATCAAGATTC  
AAGGAGTAAATGGATCCTACCTTGATCCACACATCCTGCCAGAGCCATCCTTGATTTTTGTGCCT  
GGTTCAAGT

#### Intron d/e

AAGAAAGTTTCACTGTCTAAATCTTTTTTTATGATAGAGGGTAGAGAAGTGGAGACAATGTGACA  
ATATATTGAATAAAGTTGTTTAAAATTTATAACTCTCATAAGTTCATATTATGCTGAAGCTGTAG  
CCATCTATAACTGTGTAACATGAAATGTAAAGACATTAACCTAAATACTTCAGCTGATAACAAAA  
CAATGTTAATACATACGTCAATGTAACATTTTCTTATCTTTAGGTTATAGCATAAACACTTCAGA  
GATACAGTGACGAAAACCTCTATTTAAATATTTTCAGGT

#### Domäne e

TCTTTCCTGCGTCCTGATGGGCATTTCAGATGACATCCTTGTGAGAAAAGAAGTGAACAGCCTGAC  
AACCAGGGAGACTGCATCTCTGATCCATGCTCTGAAAAGTATGCAGGAAGACCATTTCACCTGACG  
GGTTCCAAGCCATTGCCTCTTTCCATGCTCTGCCACCACTCTGCCCTTCACCATCTGCAGCTCAC  
CGTTATGCTTGCTGTGTCCACGGCATGGCTACATTTCCCAGTGGCACAGATTGTACACTGTACA  
GTTCCAGGATGCACTGAGGAGACATGGAGCTACGGTAGGTGTACCGTATTGGGATTGGCTGCGAC  
CGCAGTCTCACCTACCAGAGCTTGTCCACCATGGAGACATACCATGATATTTGGAGTAACAGAGAT  
TTCCCCAATCCTTTCTACCAAGCCAATATTGAGTTTGAAGGAGAAAACATTACAACAGAGAGAGA  
GTCATTGCAGACAACTTTTTGTCAAAGGTGGACACGTTTTTGTATAAACTGGTTCTTCAAACAA  
GCCATCCTAGCGCTGAGCAGGAAAACACTGTGACTTTGAGATTTCAGTTTGAAATTCTTCACAAC  
GGCGTTCACACGTGGGTGCGAGGCAGTCGTACCTACTCTATCGGACATCTTCATTACGCATTCTA  
CGACCTCTTTTCTACCTTCACCATTTCCAGACAGACCGTATTTGGGCAATCTGGCAAGAACTCC  
AGGAACAGAGAGGGCTCTCGGGTGATGAGGCTCACTGTGCTCTCGAGCAAATGAGAGAACCATTG  
AAGCCTTTCAGCTTCGGCGCTCCTTATAACTGGAATCAGCTCACACAGGATTTCTCCCGACCCGA  
GGACACCTTCGACTACAGGAAGTTTGGTTATGAATATGACAATTTAGAATTCCTGGGAATGTCAG  
TTGCTGAACTGGATCAATACATTATTGAACATCAAGAAAATGATAGAGTATTCGCTGGGTTCCTG  
TTGAGTGGATTTCGGAGGTTCCGCATCAGTTAATTTCCAGGTTTGTAGAGCTGATTCCACATGTCA  
GGATGCTGGGTACTTCACCGTTCTTGGTGGCAGTGCTGAGATGGCGTGGGCATTTGACAGGCTTT  
ACAAATATGACATTACTGAAACTCTGGAGAAAATGCACCTTCGATATGATGATGACTTCACAATC  
TCTGTCAGTCTGACCGCCAACAACGGAAGTGTCTGAGCAGCAGTCTAATCCCAACACCGAGTGT  
CATATTCCAGCGGGGACATCGTGACATAAATACCAGGAGCATGTCACCG

#### Intron e/f



20.03.00

Domäne f

AACCGTGTTCGCCGTGAGCTGAGCGATCTGTCTGCGAGGGACCTGTCTAGTCTCAAGTCTGCTCT  
GCGAGACCTACAGGAGGATGATGGCCCCAACGGATACCAGGCTCTTGCAGCCTTCCATGGGCTAC  
CAGCAGGCTGCCATGATAGCCGGGGAAATGAGATCGCATGTTGCATTACGGGATGCCGACCTTC  
CCCCAGTGGCACAGACTGTACACCCTGCAGTTGGAGATGGCTCTGAGGAGACATGGATCATCTGT  
CGCCATCCCCTACTGGGACTGGACAAAGCCTATCTCCGAACCTCCCCTCGCTCTTCACCAGCCCTG  
AGTATTATGACCCATGGCATGATGCTGTGGTAAACAACCCATTCTCCAAAGGTTTTGTCAAATTT  
GCAAATACCTACACAGTAAGAGACCCACAGGAGATGCTGTTCCAGCTTTGTGAACATGGAGAGTC  
AATCCTCTATGAGCAAACCTCTTCTTGCTCTTGAGCAAACCGACTACTGTGATTTTGAGGTACAGT  
TTGAGGTCCTCCATAACGTGATCCACTACCTTGTGGTGGACGTGAGACCTACGCATTGTCTTCT  
CTGCATTATGCCTCCTACGACCCATTCTTCTTTATACACCATTCTTTGTGGATAAGATGTGGGT  
AGTATGGCAAGCTCTTCAAAAGAGGAGGAACTTCCATACAAGCGAGCTGACTGTGCTGTCAACC  
TAATGACTAAACCAATGAGGCCATTTGACTCCGATATGAATCAGAACCCATTACAAAGATGCAC  
GCAGTTCCCAACACACTCTATGACTACGAGACACTGTACTACAGCTACGATAATCTCGAAATAGG  
TGGCAGGAATCTCGACCAGCTTCAGGCTGAAATTGACAGAAGCAGAAGCCACGATCGCGTTTTTG  
CTGGATTCTTGCTTCGTGGAATCGGAACTCTGCTGATGTCAGGTTTTGGATTTGTAGAAATGAA  
AATGACTGCCACAGGGGTGGAATAATTTTCATCTTAGGTGGAGCCAAGGAAATGCCATGGTCATT  
TGACAGAAACTTCAAGTTTGATATCACCCATGTACTCGAGAATGCTGGCATTAGCCAGAGGACG  
CGTTTTGATGCTGAGGAGCCATTTTATATCAAGGTTGAGATCCATGCTGTTAACAAGACCATGATA  
CCGTCGTCGTGATCCCAGCCCCAACTATCATCTATTCTCCTGGGGAAGGT

Intron f/g

GAGAGAACCAGTAATAGCTACTGTCTACAAAGAATGTGTTCAATTTAAAGACCTGACTGTAGGCCG  
ATGGCTGCTGTCTATCTCCTCCGCCTCCTCCTCCTGTTTCTCCTCCGAAGGGGTGAGCTTCAGGTT  
CTCTTGCCAATATGCCAAGCAGACCTCCTGAGCAGGCAGTATATATACGTAAGGGAAGCAAGTAT  
GGACCATCGCGCGCATGTAGAGATACAATGATCAGCTGTCTGCTGTTCCACTCCTGTGACACAA  
TGAGATAAACATGAATACAGTATTACTCATCATCGTTCCAATTTTCAACCCTAGTATTTATTA  
AAATAGGATATTTTTATNATNTNTNTCCCTNTNTATNATTTTTNNATAGTATATTNNTACTTA  
NTCTCATCNNTAATATTCTTGNTATNACANNNTANNATCTNTNTTCTTNNTNNCCTCCNCNCTAT  
TNNNTCTTNNTANTTACTNTNNTTCTANATTANNA

Domäne g

GCGCTGCTGACAGTGACACTCGGCCAACATTGCTGGCTCTGGGGTGAGGAAGGACGTCACGAC  
CCTTACTGTGTCTGAGACCGAGAACCTAAGACAGGCTCTTCAAGGTGTCATCGATGATACCGGTC  
CCAATGGTTACCAAGCAATAGCATCCTTCCACGGAAGTCTCCAATGTGCGAGATGAACGGCCGC  
AAGGGTGCTGTGTTGTGCTCACGGTATGGCCTCCTTCCCACACTGGCACAGACTGTATGTGAAGCA  
GATGGAAGATGCCCTGGCTGACCACGGGTACATATCGGCATCCCTTACTGGGACTGGACAACCTG  
CCTTACAGAGTTACCCGCCCTTGTACAGACTCCGAGAACAATCCCTTCCATGAGGGTCGCATT  
GATCATCTCGGTGTAACCACGTACGTTCCCCCAGAGACATGCTGTTTAAACGACCCAGAGCAAGG  
ATCAGAGTCGTTCTTCTATAGACAAGTCCTCCTGGCTTTGGAGCAGACTGACTACTGCCAGTTTCG  
AAGTCCAGTTTGAGCTGACCCACAACGCCATTCACTCCTGGACAGGTGGACGTAGCCCTTACGGA  
ATGTCGACCCCTCGAGTTACAGCCTACGATCCTCTCTTCTGGCTTCAACACTCCAACACCGACAG  
AATCTGGGCTGTCTGGCAAGCACTGCAGAAATACCGAGGACTCCCATACAACGAAGCACACTGTG  
AAATCCAGGTTCTGAAACAGCCCTTGAGGCCATTCAACGATGACATCAACCACAATCCAATCACC  
AAGACTAATGCCAGGCCTATCGATTCAATTTGATTATGAGAGGTTTAACTATCAGTATGACACCCT  
TAGCTTCCATGGTAAGAGCATCCCTGAACTGAATGACCTGCTCGAGGAAAGAAAAAGAGAAGAGA  
GAACATTTGCTGCCTTCTTCTCGTGGAATCGGTTGCAGTGCTGATGTCGTCTTTGACATCTGC  
CGGCCCAATGGTGACTGTGTCTTTGCAGGAACCTTTGCTGTGCTGGGAGGGGAGCTAGAAATGCC  
TTGGTCCTTCGACAGACTGTTCCGCTATGACATCACCAGAGTCATGAATCAGCTCCATCTCCAGT

22.03.00

ATGATTTCAGATTTCACTTGGGTGAAGCTTGTGTCACCAAGCTTGAGCTTTCATCAGAC  
CTTCTCAAGTCACCAACAATTGAACATGAACTTGG

#### Intron g/h

GTATGTTATCTTATCATCAAATGTGTGATCAGATACTGGAGACGTTTTTCATATTAAGTTGGTCAG  
CATTAGTTGATGATTTTGGTGCGATGTTGACGACAAGGAGTCAAGCATTAAACACATTCAACACAT  
CTTTAATCTGATATGAGAAGGGAATAAATTGATCCAGTATTGATGATTGAAGTTAGATTAACAGT  
GAAAGATATACCAGTTTTGATAATCGTATAAAACAGTAGCAGAATTGTATCGTGAAACTAAATG  
TGGGAAGGCGAACGCCAAGCAGATTTTAGATTACGATCGTGTGCTAGAATAATTCACAATAACCC  
AGACGTCGGAAATGTGGTTGTCTATGGCAATGGTTACGATTAATTGCTAACATGCACGATTTACC  
TATTTTCAG

#### Domäne h

AGCCACAGAGGACCAGTTGAAGAAACAGAAGTCACTCGCCAACTACTGACGGCAATGCACACT  
TTCATCGTAAGGAAGTTGATTTCGCTGTCCCTGGATGAAGCAAACAAGTTGAAGAATGCCCTTTAC  
AAGCTACAGAACGACCACAGTCTAACGGGATACGAAGCAATCTCTGGTTACCATGGATACCCAA  
TCTGTGTCGGGAAGAAGGCGATGACAAAATACCCCTGCTGCGTCCCGGATGGGCATCTTTCCTT  
ACTGGCACAGACTCTTGACCATTCAACTGGAAAGAGCTCTTGAGCACAATGGTGCAGTCTTGGT  
GTTTCCTTACTGGGACTGGAAACAAGGACCTGTGCTCACTGCGGGCGTTCTTCTCGACTCCAGCAA  
CAACAATCCCTACTTCAAGTACCACATCGCCGGTGTGGTACGACACCGTCAGAGAGCCAACTA  
GTCTTATATATAACCAGCCCCAAATCCATGGTTATGATTATCTCTATTACCTAGCATTGACCAG  
CTTGAAGAAAACAATTACTGGGACTTTGAGGTTTCAATGATGATGATGGAAGAGCCACTGGCGCCCTTCAG  
CTGGCTTGGAGGATCCAGAAAGTATTCATGTCTACCCCTGGAGTATTCGGCCTTTGACCCTGTCT  
TTATGATCCTTCACTCGGGTCTAGACAGACTTTGGATCATCTGGCAAGAACTTCAGAAGATCAGG  
AGAAAGCCCTACAACCTCGCTAAATGTGCTTATCATATGATGGAAGAGCCACTGGCGCCCTTCAG  
CTATCCATCTATCAACCAGGACGAGTTCAACCGTGCCAACCTCCAAGCCTTCTACAGTTTTTGACA  
GCCATAAGTTTCGGCTACCATTACGATAACCTGAATGTTAGAGGTCACAGCATCCAAGAACTCAAC  
ACAATCATCAATGACTTGAGAAACACAGACAGAATCTACGCAGGATTTGTTTTGTGAGGCATCGG  
TACGTCTGCTAGTGTCAAGATCTATCTCCGAACAGATGACAATGACGAAGAAGTTGGAACCTTTCA  
CTGTCTCTGGGAGGAGAGAGGGAAATGCCATGGGCCTACGAGCGAGTTTTCAAGTATGACATCACA  
GAGGTTGCAGATAGACTTAAATTAAGTTATGGGGACACCCCTTTAACTTCCGGAAGTGGAGATCA  
CATCCTTACGAATGGAATCGGTGGTAAACAAGAGCCTACCCAAATCCTTTTCATCATCTACAGACC  
GCCAATCATGACTACGATGTTCTTGTTATCCAGTANGGAAGAAACCTTCACATCCCTCCCAA  
TTGTGCTCAAGAAAGGCACCCGCATCGAGTTCCACCCAGTCGATGATTAGTTACGAGACCAGT  
TGTTGATCTTGGAAGCTACACTGCACCTCTTCAACTGTGTGGTACCACCGTTTACATACCACGGAT  
TCGAACTGAACCACGTCTATTCTGTCAAGCCTGGTGACTACTATGTTACTGGACCCACGAGAGAC  
CTTTGCCAGAATGCAGATGTCAGGATTCATATCCATGTTGAGGATGAGTAA

#### 3'-UTR

CGCAACAGGT

#### Intron 3'-UTR

GAGATAAGAAACCCCTTCTAACAGTAATACGACACCACATTACAGCTTAAACATGATTGCCATCGA  
TGTTTTTCATGTGTAGTATACGCTTTTTCAGTTCTACATAATTTTGTTTTTCAAATCAAGTTTAGCA  
AATGAATCTATCACTGGAAAATAGGGTAGGGTAGCCAAGTGGTTAAAGCGGTCACTGATCACGCC  
AAAGACGAGTGTCTAACCTGCATGGGTACAAAAGTGAAGACCATTGCTGGTGTCTACCGCCGTA

22.03.00

ATATTGTTTTTAGTATTGCTAAAACTTATACTCACCCATGCGCTGTAAAAGTGGAATAATAATCA  
TATTTCAACAAAAGCACAAAACCATTTCATTTTCATGAAAGCCTCTTGTTACCTGAAAGACGCA  
AGAGAACAATAGTTCCTAACATTATTTTCAGACATTGGAAATGTCCTGCACGTGTAAACCATATA  
TCCTTTGAAATTTTACGACTGCATCGTATACAATTTATGATATAAATTTAAACTTTAT

3'-UTR

TTCTTGCTCTCCACATATTCACATATCAGCACCAAATGGTTTCGAAGGACATTGGCGTTCTTCTC  
TGGCAATGCATTTCAATACAACATTGAAAATGACTTCAGCATATCAGTGTGCTTCGAACGTGTTT  
CGGAAGTACTCAAATGTGCTATGACTGAATTATTGTACATACATACTTATTGATGTTCAATAAA  
TAAATGTTGAAACGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

22.03.00

Figur 7

Abgeleitete Primärstruktur des HtH2

FFLSHIGTSANVEIIIDHGTLHTSVGTFFAVLGGEKEMKWGFDRLYKYEITDELRLQLNLRADDVFS  
ISVKVTDVDGSELSSSELIPSAAIIFERSHIDHQPHTDT

IIRKNVDNLTPEEINSLRRAMADLQSDKTAGGFQQIAAFHGEPKWCPSPDAEKKFSCCVHGMVAF  
PHWHRLTLVQGENALRKHGCLGALPYWDWTRPLSHLPDLVLVSSRTTPMPYSTVEARNPWYSGHI  
DTVGVDTTTRSVRQELYEAPGFGHYTGVAQVLLALEQDDFCDFEVQFEIAHNFIHALVGGSEPYG  
MASLRYTTYDPIFYLLHHSNTDRLWAIWQALQKYRGKPYNSANCAIASMRKPLQPFGLTDEINPDD  
ETRQHAVPFSVFDYKNNFNIEYDITLDFNGLSISQLDRELSRRKSHDRVFAGFLLHGIQQSALVKF  
FVCKSDDDCDHYAGEFYILGDEAEMPWGYDRLYKYEITEQLNALDLHIGDRFFIRYEAFDLHGTS  
LGSNIFPKPSVIHDEGAG

HHQADEYDEVVTAASHIRKNLKDLSKGEVESLRS AFLQLQNDGVYENIAKFHGKPGLCDDNGRKV  
ACCVHGMPTFPQWHRLYLQVENALLERGS AVSVPYWDWTETFTELPSLIAEATYFNSRQQTDFP  
NPFGRKISFENAVTTRDPQPELYVNRYYYQNVMLVFEQDNYCDFEIQFEMVHNVLHAWLGGRAT  
YSISSLDYS AFDPVFFLHHANTDRLWAIWQELQRYRKPYNEADCAINLMRKPLHPFDNSDLNHD  
PVTFKYSKPTDGFYQNNFGYKYNLEFNHFSIPRLEEIRIRQRQDRVFAGFLLHNIGTSATVE  
IFVCVPTTSGEQNCENKAGTFAVLGGETEMAFHFDRLYRFDISETLRDLGIQLDSDHFDLSIKIQ  
GVNGSYLDPHILPEPSLIFVPGSSSFLRDPG

HSDDILVRKEVNSLTTRETASLIHALKSMQEDHSPDGFQAIASFHALPPLCPSPSAAHRYACCVH  
GMATFPQWHRLYTVOFQDALRRHGATVGVPYWDWLRPQSHLPPELVTMETYHDIWSNRDFPNPFYQ  
ANIEFEGENIT TEREVIADKLFVKGGHVFDNWFFKQAILALEQENYCDFEIQFEILHNGVHTWVG  
GSRTYSIGHLHYAFYDPLFYLLHHSQTDRIWAIWQELQEQRGLSGDEAHCALEQMREPLKPFSGA  
PYNWNQLTQDFSRPEDTFDYRKFGYEYDNLEFLGMSVAELDQYIIIEHQENDRVFAGFLLSGFGGS  
ASVNFQVCRADSTCQDAGYFTVLGGS AEMAWAFDRLYKYDITETLEKMHLRYDDDFITISVSLTAN  
NGTVLSSSLIPTPSVIFQRG

HRDINTRSMSPNRVRRELS DLSARDLSSLKSALRDLQEDDGPNQYQALAAFHGLPAGCHDSRGNE  
IACCIHGMPTFPQWHRLYTQLQEMALRRHGSSVAIPYWDWTKPISELPSLFTSPEYYDPWHDVAV  
NNPFSKGFVKFANTYTVRDPQEMLFQLCEHGESIYEQTLLEQTDYCDFEVQFEVLHNVIHYL  
GGRTYALSSSLHYASYDPFFFIIHHSFVDKMVWVWQALQKRRKLPYKRADCAVNLMTKPMRPFDS  
MNQNPFTKMHAVPNTLYDYETLYSYDNLEIGGRNLDQLQAEIDRSRSHDRVFAGFLLRGIGTS  
ADVRFWICRNENDCHRGGIIFILGGAKEMPWSFDRNFKFDITHVLENAGISPEDVFD AEEPFIYIK  
VEIHAVNKTMI PSSVIPAPTI IYSPGE

GRAADSAHSANIAGSGVRKDVTTLTVSETENLRQALQGVDDTGPNQYQAIASFHGSPPMCEMNG  
RKGACCAHGMASFPHWHRLYVKQMEDALADHGSHIGIPYWDWTTAFTELPALVTDSENNPFHEGR  
IDHLGVTTSRSPRDMLENDPEQGSSEFFYRQVLLALEQTDYCFEVQFELTHNAIHSWTGGRSPY  
GMSTLEFTAYDPLFWLHHSNTDRIWAVWQALQKYRGLPYNEAHCEIQVLKQPLRPFNDNDINHNPI  
TKTNARPIDSFDYERFNYQYDTLSFHGKSIPELNDLLEERKREERTFAAFLLRGIGCSADVVFDI  
CRPNGDCVFACTFAVLGGELEMPWSFDRFLFRYDITRVMNQLHLQYDSDFSFRVKLVATNGTELSS  
DLLKSPTIEHEL

AHRGPVEETEVT RQHTDGN AHFHRKEVDSL SLD EANNLKNALYKLQNDHSLTG YE AISGYHGYPN  
LCPEEGDDKI PCCVHGMGIFPYWHRLTLIQLERALEHNGALLGV PYWDWNKDLSSLPAFFSDSSN  
NNPYFKYHIAGVGHD TVREPTSLIYNQPQIHGYDYLYLALTTLEENNYCDFEVQYEILHNAVHS  
WLGGSQKYS MSTLEYS AFDPVFMILHSGLDRLWIWQELQKIRKPYNFAKAYHMMEPLAPFS  
YPSINQDEFTRANSKPSTVFDQHKFGYHYDNLVVRGHSIQELNTIINDLRNTDRIYAGFVLSGIG

22.03.00

TSASVKIYLRDDNDEEVGTFTVLGGEREMPWAYERVFKYDITEVADRLKLSYGDTFNFRLEITS  
YDGSVVNKSLPNPFI IYRPAHNDYDVLVIPVGRNLHIPPKVVVKKGTRIEFHPVDDSVTRPVVDL  
GSYTALFNCVPPFTYHGFELNHVYSVKPGDYVVTGPTRDLCQNADVRIHIHVEDE

22.03.00

Figur 8

cDNA-Sequenz in Verbindung mit Intronstruktur des KLH1

Domäne KLH-1c

TGGCATCGCTTCGCTACACTGCTTTTGATCCACTATTCTACTTGCATCACTCTAATACAGATCGT  
ATATGGGCAATATGGCAGGCTTTACAGAAGTACAGAGGAAAACCGTACAACGTTGCTAACTGTGC  
TGTTACATCGATGAGAGAACCCTTTGCAACCATTGCGCCTCTCTGCCAATATCAACACAGACCATG  
TAACCAAGGAGCATTCACTGCCATTCAACGTTTTTGATTACAAGACCAATTTCAATTATGAATAT  
GACACTTTGGAATTTAACGGTCTCTCAATCTCTCAGTTGAATAAAAAGCTCGAAGCGATAAAGAG  
CCAAGACAGGTTCTTTGCAGGCTTCCTGTTATCTGGTTTTCAAGAAATCATCTCTTGTAAATTCA  
ATATTTGCACCGATAGCAGCAACTGTCACCCCGCTGGAGAGTTTTACCTTCTGGGTGATGAAAAC  
GAGATGCCATGGGCATACGATAGAGTCTTCAAATATGACATAACCGAAAACTCCACGATCTAAA  
GCTGCATGCAGAAGACCACTTCTACATTGACTATGAAGTATTTGACCTTAAACCAGCAAGCCTGG  
GAAAAGATTTGTTCAAGCAGCCTTCAGTCATTCATGAACCAAGAATAG

ntron c/d

GTAATTGTTATATGTTTCGAATATTGCCGATACCTTCAATATATATACTTTATCAAAGTAATTGA  
TTAATCTGAAGTAATTTTCCTTTCCAGTAGAGATTCACTTGATACAACAAGAAATTCGCCCTGTG  
TATGTCACCTTTATTTTCATCAAACGATTGGAAGTGAGCTGTCCATGCCACAATGGGGTCTCTGTA  
ACTTTCTCGTATGGGGTATAGATTATATAGACGTGGCAGACCTTACGTATAACTAATATTTGTGT  
AATGTCGTTTCAG

Domäne KLH-1d

GTCACCATGAAGGCGAAGTATATCAAGETGAAGTAACTTCTGCCAACCGTATTGAAAAAACATT  
GAAAATCTGAGCCTTGGTGAAGTCTGAGAGCTGCCTTCTGGAAATTGAAAACGATGG  
AACTTACGAATCAATAGCTAAATTCCATGGTAGCCCTGGTTTGTGCCAGTTAAATGGTAACCCCA  
TCTCTTGTGTGTCCATGGCATGCCAACTTTCCCTCACTGGCACAGACTGTACGTGGTTGTCTGTT  
GAGAATGCCCTCCTGAAAAAAGGATCATCTGTAGCTGTTCCCTATTGGGACTGGACAAAACGAAT  
CGAACATTTACCTCACCTGATTTTCAAGACGCCACTTACTACAATTCCAGGCAACATCACTATGAGA  
AAACCCATTCCATCATGGCAAAATCACACACGAGAATGAAATCACTACTAGGGATCCCAAGGAC  
AGCCTCTTCCATTCACTACTTTTACGAGCAGGTCTTTACGCCTTGGAGCAGGATAACTTCTG  
TGATTTTCGAGATTCACTTGGAGATATTACACAATGCATTGCATTCTTTACTTGGTGGCAAAGGTA  
AATATTCCATGTCAAACCTTGATTACGCTGCTTTTGATCCTGTGTTCTTCTTTCATCACGCAACG  
ACTGACAGAATCTGGGCAATCTGGCAAGACCTTCAAGAGTTCCGAAAACGGCCATACCGAGAAGC  
GAATTGCGCTATCCAATTGATGCACACGCCACTCCAGCCGTTTGATAAGAGCGACAACAATGACG  
AGGCAACGAAAACGCATGCCACTCCACATGATGGTTTTGAATATCAAACAGCTTTGGTTATGCT  
TACGATAATCTGGAAGTGAATCACTACTCGATTCTCAGCTTGATCACATGCTGCAAGAAAGAAA  
AAGGCATGACAGAGTATTGCTGGCTTCCTCCTTCAATATTGGAACatCTGCCGATGGCCATG  
TATTTGTATGTCTCCCAACTGGGGAACACACGAAGGACTGCAGTCATGAGGCTGGTATGTTCTCC  
ATCTTAGGCGGTCAAACGGAGATGTCCTTTGTATTTGACAGACTTTACAACTTGACATAACTAA  
AGCCTTGAAAAAGAACGGTGTGCACCTGCAAGGGGATTTGATCTGGAAATTGAGATTACGGCTG  
TGAATGGATCTCATCTAGACAGTCATGTCATCCACTCTCCCACTATACTGTTTGAGGCCGGAACA  
G

Intron d/e

GTAAC TATTTTGTCACTGTAACCAACAAC TGCAGTCTATTTTGCAATTACGATAATAACAATTTT  
TGAAATATATCTTTATTAAAGCAAAGGTTTCTAGAGACAAACAGCCGGCTCTAATTATTTTTTCG  
AACTTACGCTTGAGTAAAGATCTGCAAATGGCAACCCTACCTATACTATTAAAAATATAATGTTA  
CATTCGTATCTGAATGTTTAATAAATCACTTCATATTCTGTTGCAG

Domäne KLH-1e

ATTCTGCCCACACAGATGATGGACACACTGAACCAGTGATGATTGCGCAAAGATATCACACAATTG  
GACAAGCGTCAACAAC TGTCACTGGTGAAAGCCCTCGAGTCCATGAAAGCCGACCATT CATCTGA  
TGGGTTCCAGGCAATCGCTTCCTTCCATGCTCTTCCTCCTCTTTGTCCATCACCAGCTGCTTCAA  
AGAGGTTTGCGTGCTGCGTCCATGGCATGCCAACCTTCCCGCAATG

22.03.00

Domäne KLH-2c

CTGATGCCAAAGACTTTGGCCATAGCAGAAAAATCAGGAAAGACGTTGATTCTCTGACAGTCGAA  
GAACAAACTTCGTTGAGGCGAGCTATGGCAGATCTACAGGACGACAAAACATCAGGGGGTTTCCA  
GCAGATTGCAGCATTCCACGGAGAACC AAAATGGTGTCCAAGCCCCGAAGCGGAGAAAAAATTTG  
CATGCTGTGTTTCATGGAATGGCTGTTTTCCCTCACTGGCACAGATTGCTGACAGTTCAAGGAGAA  
AATGCTCTGAGGAAACATGGCTTTACTGGTGGACTGCCTTACTGGGACTGGACA



22.03.08

Figur 11

Abgeleitete Primärstruktur von KLH2

KLH-2b

LRYTAFDPIFYLHHSNVDRLWAIWQALQIRRGKSYKAHCASSQEREPLKPFAFSSPLNNNEKTYH  
NSVPTNVYDYVGVLYRYDDLQFGGMTMSELEEYIHKQTQHDRTFAGFFLSYIGTSASVDIFINR  
EGHDKYKVGSFVVLGGSKEMKWGFDRMYKYEITEALKTLNVAVDDGFSITVEITDVDGSPPSADL  
IPPPAIIIFERGH

KLH-2c

ADAKDFGHSRKIRKDVDLTVVEEQTSLLRRAMADLQDDKTSGGFQQIAAFHGEPKWCPSPAEKKF  
ACCVHGMVFPWHRLTLTVQGENALRKHGFTGGLPYWDWT



100